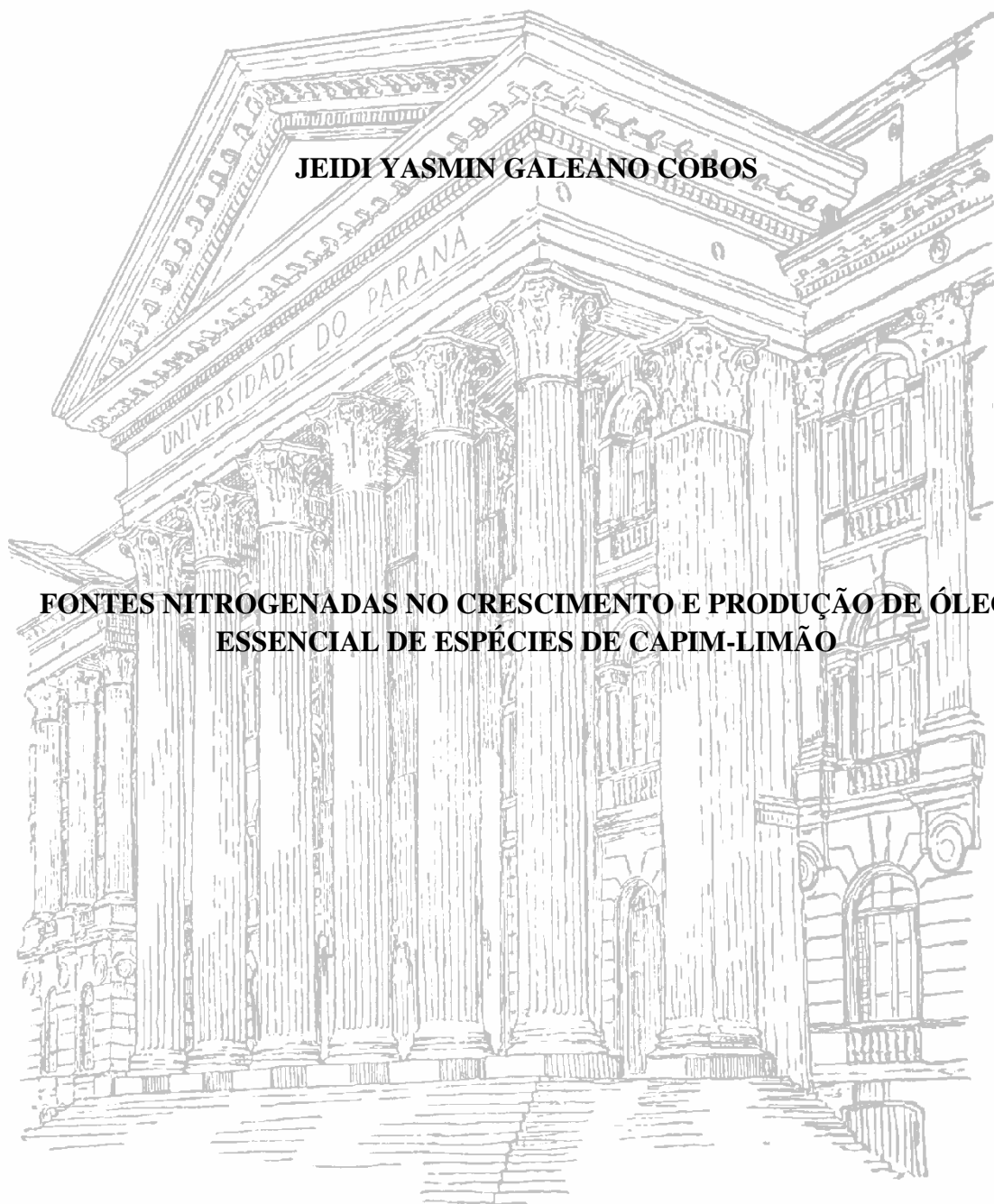


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JEIDI YASMIN GALEANO COBOS

**FONTES NITROGENADAS NO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE CAPIM-LIMÃO**



CURITIBA

2015

JEIDI YASMIN GALEANO COBOS

**FONTES NITROGENADAS NO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE CAPIM-LIMÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Cícero Deschamps

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Volnei Pauletti

CURITIBA

2015

G152 Galeano Cobos, Jeidi Yasmin

Fontes nitrogenadas no crescimento e produção de óleo
essencial de espécies de capim-limão. / Jeidi Yasmin Galeano
Cobos. Curitiba : 2015.

82 f. il.

Orientador: Cícero Deschamps

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Produção Vegetal.

1. Plantas aromáticas. 2. Essencias e óleos essenciais.
3. Fertilizantes orgânicos. I. Deschamps, Cícero. II. Universidade
Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Agronomia – Produção Vegetal. III. Título.

CDU 633.81:631.861



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL

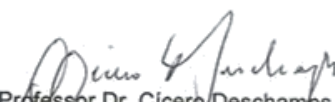


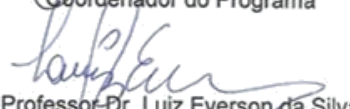
PARECER

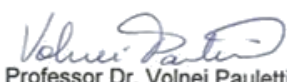
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata JEIDI YASMIN GALEANO COBOS, sob o título "FONTES NITROGENADAS NO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE CAPIM LIMÃO", para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.


Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata são de parecer pela "APROVAÇÃO" da Dissertação.

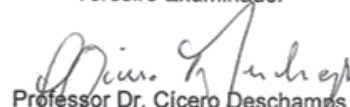
Curitiba, 25 de Fevereiro de 2015.


Professor Dr. Cicero Deschamps
Coordenador do Programa


Professor Dr. Luiz Everson da Silva
Primeiro Examinador


Professor Dr. Volnei Pauletti
Segundo Examinador


Professor Dr. Mauro Brasil Dias Tofanelli
Terceiro Examinador


Professor Dr. Cicero Deschamps
Presidente da Banca e Orientador

“O essencial é invisível aos olhos”

Antoine de Saint-Exúpery

DEDICO

Agradeço a Deus por fazer tudo possível.

Aos produtores de plantas aromáticas e medicinais da minha amada Colômbia, especialmente aos meus avôs Graciela Mendoza e Mario Cobos, quem sempre despertaram em mim o amor pelas plantas.

A minha mãe Esperanza Cobos, pelo amor e apoio incondicional na conquista dos meus sonhos e aspirações.

Aos meus irmãos Yenny Patricia e Freddy Galeano por serem o suporte e inspiração da minha vida.

A minha querida professora da graduação, Martha Lizzy Rojas por ser o meu exemplo profissional.

Ao meu esposo Cristhian Hernández, por caminhar junto nesta conquista de vida, pelo amor, apoio incondicional e por toda a ajuda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder o sonho de estudar no Brasil e por me iluminar e acompanhar sempre.

A minha amada mãe, Esperanza Cobos, meus irmãos Yenny e Freddy, pelo amor, companhia desde a distância, orações, paciência e motivação na realização deste sonho.

Ao amor da minha vida, Cristhian Hernandez, pelo amor, paciência, ajuda incondicional, companhia e grande decisão de vir para o Brasil para estudarmos juntos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cícero Deschamps, por ter me aceitado neste projeto, pela confiança e por me acompanhar nesta experiência de vida acadêmica de formação profissional e pessoal.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Volnei Pauletti, pelo auxílio, sugestões, valiosas contribuições, ensinamentos e conselhos durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Às minhas lindas amigas e colegas Michele e Mirele Trombin, pela sua alegria, amizade e valiosa ajuda.

À Vivian Jaskiw Szilagyi por motivar-me e ajudar-me nas experimentações e pela bonita amizade construída.

Aos senhores Altair, Lourival e Nelson que trabalharam e ajudaram-me na fazenda Cangüiri, permitindo obter as plantas de estudo desta pesquisa e uma linda amizade.

Aos meus colegas de área de pesquisa, Wanderlei Do Amaral, Laís Gomes e Felipe Francisco, pelo auxílio que de alguma forma ajudou na realização deste trabalho.

Ao Roger Raupp Cipriano pelas análises cromatográficas do óleo essencial.

Aos técnicos de laboratório do Departamento de Solos, pelo auxílio e entendimento das análises realizadas.

À Universidade Federal do Paraná, por disponibilizar todas as ferramentas para o desenvolvimento da minha pesquisa e por me permitir estudar, aprender e levar toda uma experiência de vida.

À CAPES pela concessão da bolsa.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Jeidi Yasmin Galeano Cobos, filha de Maria Esperanza Cobos e Jorge Galeano, nasceu em Bogotá, capital da Colômbia. Durante sua infância criou-se em um ambiente rural influenciado fortemente pela tradicional cultura de plantas aromáticas e medicinais, sendo esse contexto a inspiração e incentivo na escolha do seu curso de formação. Estudou Engenharia em Agroecologia na universidade Minuto de Deus –UNIMINUTO- em Bogotá e paralelamente um curso de formação em Tecnologia Profissional da Produção Agrícola no SENA (Serviço Nacional de Aprendizado). Entre 2010 e 2012 trabalhou com a universidade UNIMINUTO em diferentes áreas: primeiro no Laboratório de Ciências Biológicas, logo após como docente e finalmente como Coordenadora do Centro de Educação Superior CERES da “Província del Guavio, Cundinamarca”.

Em 2013 iniciou estudos de mestrado em Agronomia, área de estudo, manejo de culturas na linha de pesquisa de Plantas Aromáticas, Medicinais, Condimentares e Metabolismo Secundário, do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal do Paraná.

RESUMO

As espécies *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, pertencentes à família *Poaceae* são importantes entre as gramíneas que produzem óleos essenciais devido à produção de citral. Considerando os altos custos da adubação nitrogenada e a crescente demanda por plantas aromáticas e medicinais cultivadas organicamente, estudos sobre fontes orgânicas de nitrogênio tornam-se importantes. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes compostagens de dejetos animais como fontes orgânicas de nitrogênio sobre a produção de biomassa e de óleo essencial de capim-limão. Para isso, instalou-se um experimento em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x5 conduzido na Fazenda Experimental do Cangüiri da Universidade Federal do Paraná localizada em região subtropical do Brasil. Foram avaliadas duas espécies de capim-limão (*C. citratus* e *C. flexuosus*) submetidas a quatro fontes de N (compostagem de dejetos bovino, caprino, avícola e ureia) mais a testemunha. A dose de nitrogênio em todos os tratamentos foi de 40 kg ha⁻¹, com exceção da testemunha que não foi adubada. A produção de biomassa e de óleo essencial, bem como a eficiência fisiológica do nitrogênio nestas variáveis foi avaliada aos 160 e 220 dias após plantio (DAP). Além dos constituintes do óleo essencial de cada espécie, determinou-se o conteúdo mineral das folhas, bem como a influência de cada elemento com a produção de biomassa e de óleo essencial. Em experimento de casa de vegetação foi avaliado o efeito de diferentes doses de ureia na produção de biomassa foliar, teor e composição do óleo essencial. Não houve diferenças entre as fontes orgânicas e ureia em relação à produção de biomassa e de óleo essencial para ambas as espécies. No entanto, a utilização de compostagem de dejetos bovino resultou em menor produção de biomassa e óleo essencial em *C. flexuosus*. As fontes nitrogenadas não afetaram a composição do óleo essencial. Os resultados demonstraram ainda que *C. citratus* apresenta maior teor de óleo essencial nas folhas em comparação com *C. flexuosus*, contudo menor produção de biomassa e de óleo essencial. A eficiência fisiológica do nitrogênio foi superior em *C. flexuosus* para a produção de biomassa, porém, não houve influência deste elemento na produção de óleo essencial em ambas as espécies. A espécie *C. citratus* apresentou um teor de citral de 70,6% na colheita aos 160 DAP e de 71,8% aos 220 DAP, enquanto *C. flexuosus* apresentou para as mesmas colheitas 80,1% e 80,8%. A composição química das folhas apresentou diferenças entre as espécies. As doses de ureia não afetaram a altura, número de folhas, área foliar e massa fresca das espécies em ambas as colheitas. A massa seca de *C. flexuosus* foi superior com o uso de 80 e 120 kg ha⁻¹ de N.

Palavras-chave: Plantas aromáticas e medicinais, compostagem, citral, eficiência fisiológica do N, composição mineral da folha, nitrogênio.

ABSTRACT

The species *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, belong to the family *Poaceae* and are important among the grasses which produce essential oil and citral. Considering the high costs of nitrogen fertilizer and the growing demand for aromatic and medicinal plants organically grown, studies on organic sources nitrogen become important. This study aimed to evaluate the effect of different composting animal waste as organic nitrogen sources on the production of biomass and essential oil of lemongrass. For this, it settled a experiment factorial design 2x5, completely randomized, at Cangüiri farm UFPR, subtropical region of Brazil. We evaluated two species of lemongrass *C. citratus* and *C. flexuosus* subjected to four sources of N (composting bovine manure, goat manure composting and poultry manure composting, urea) and the control. The dose of N was only 40 kg ha⁻¹ except the control that was not fertilized. Plant production, essential oil production and physiological efficiency of N in these variables were evaluated to 160 and 220 days after planting (DAP). In addition to the constituents of the essential oil of each type, the mineral content of the leaves was determined as well as the influence of each element with biomass production and essential oil. In greenhouse experiment evaluated the effect of different doses of urea in the production of leaf biomass, essential oil content and composition. There were no differences between organic sources and urea in the production of biomass and essential oil for both species. However, the use of bovine manure composting resulted in lower biomass production and essential oil *C. flexuosus*. The nitrogen sources do not affect the essential oil composition. The results also demonstrated that *C. citratus* has higher essential oil content in the leaves compared to *C. flexuosus*, but lower production of biomass and essential oil. The physiological efficiency of N was higher in *C. flexuosus* for biomass production, however, there was no influence of N in essential oil production in either species. The species *C. citratus* presented a 70.6% citral content, harvested at 160 DAP and 71.8% to 220 DAP, while *C. flexuosus* presented to the same crops 80.1% and 80.8%. The chemical composition of the leaves differ between each species. Urea doses do not affect the height, number of leaves, leaf area and fresh weight of the species in both crops. The dry weight of *C. flexuosus* was superior with the use of 80 and 120 kg ha⁻¹ de N.

Keywords: aromatic and medicinal plants, composting, citral, physiological efficiency of N, mineral composition of leaf, nitrogen.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES	3
2.2. HISTÓRIA.....	4
2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS	5
2.3.1. Importância econômica dos óleos essenciais	6
2.4. CITRAL	7
2.5. IMPORTÂNCIA DO N NO METABOLISMO SECUNDÁRIO DE CAPIM-LIMÃO.....	7
2.6. HIPÓTESE DE BALANÇO CARBONO/NUTRIENTES.....	8
2.7. A FERTILIZAÇÃO NITROGENADA ORGÂNICA E INORGÂNICA	9
2.8. A COMPOSTAGEM COMO FONTE ORGÂNICA DE N.....	10
3. FONTES NITROGENADAS NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cymbopogon citratus</i> E <i>Cymbopogon flexuosus</i>	13
3.1. INTRODUÇÃO	15
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.2.1. Localização e implantação do experimento	17
3.2.2. Adubação	20
3.2.3. Medição das variáveis de crescimento	21
3.2.4. Extração de óleo essencial.....	22
3.2.5. Identificação e quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial	22
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
3.3.1. Número de perfilhos, altura e área folhar aos 160 e 220 DAP	24
3.3.2. Produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial aos 160 e 220 DAP	25
3.3.3. Eficiência fisiológica do N para a produção de biomassa e de óleo essencial aos 160 e 220 DAP	29
3.3.4. Implicações do nitrogênio sobre o cultivo de capim-limão	30
3.3.5. Composição do óleo essencial de <i>C. citratus</i> e <i>C. flexuosus</i> aos 160 e 220 DAP ..	31
3.4. CONCLUSÕES	34
3.5. REFERÊNCIAS.....	35

4. TEOR DE MACRO E MICRONUTRIENTES EM FOLHAS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO ADUBADO COM DIFERENTES FONTES NITROGENADAS	39
4.1. INTRODUÇÃO	41
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	43
4.2.1. Implantação do experimento	43
4.2.2. Preparação da amostra para análise de composição elementar	44
4.2.3. Extração de óleo essencial, identificação e quantificação dos seus constituintes químicos	45
4.2.4. Análises estatísticas	46
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.3.1. Produtividade de biomassa ¹	47
4.3.2. Composição mineral da folia aos 160 e 220 DAP	47
4.3.2.1. Macronutrientes	47
4.3.2.2. Micronutrientes	50
4.3.2.3. Biossíntese de citral em capim-limão e participação dos nutrientes na rota metabólica	52
4.4. CONCLUSÕES	56
4.5. REFERÊNCIAS	57
5. PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE DUAS ESPÉCIES DE CAPIM-LIMÃO EM DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO	60
5.1. INTRODUÇÃO	62
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	64
5.2.1. Caracterização do experimento	64
5.2.2. Delineamento experimental	64
5.2.3. Produção de biomassa e de produtividade de óleo essencial	65
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.3.1. Produção de biomassa	67
5.3.2. Teor de óleo essencial	69
5.3.3. Composição do óleo essencial	71
5.4. CONCLUSÕES	72
5.5. REFERÊNCIAS	73
6. CONCLUSÕES GERAIS	76
REFERÊNCIAS GERAIS	77

LISTA DE FIGURA

- Figura 2.1-** Estrutura química dos constituintes formadores de citral do óleo essencial de capim-limão.....7
- Figura 3.1-** Precipitação média mensal (mm) ocorrida no município de Pinhais-Brasil entre julho de 2013 e outubro de 2014. As flechas indicam o mês em que foi realizada a semeadura (22-24/10/2013) e os meses de colheitas: colheita I (18-24/03/2014) e colheita II (14-19/05/2014).....17
- Figura 3.2-** Temperaturas mínima, média e máxima (°C) ocorridas no município de Pinhais-Brasil entre julho de 2013 e outubro de 2014.....18
- Figura 3.3-** Aspecto visual das duas espécies de capim-limão. **A.** *Cymbopogon flexuosus* (Cf). **B.** *Cymbopogon citratus* (Cc).....19
- Figura 3.4-** **A.** Croqui do experimento com os quatro blocos e as parcelas de 4•2 m com os 10 tratamentos em uma área de 630 m². T1 e T6: testemunha 0 kg N ha⁻¹; T2 e T7: ureia como fonte nitrogenada 40 kg N ha⁻¹; T3 e T8: compostagem de dejetos bovino (C₁ Bovino); T4 e T9: compostagem de dejetos caprino (C₂ Caprino); T5 e T10: compostagem de cama de frango (C₃ Avícola), sendo as compostagens aplicadas na proporção de 40 kg N ha⁻¹. Cc: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e Cf: *Cymbopogon flexuosus* (Ness ex Steud.) Wats. **B.** A flecha indica o detalhe do espaçamento e o número de plantas por parcela: os pontos verdes do meio representam as nove plantas amostradas por parcela útil e os pontos vermelhos, as dezesseis plantas da bordadura não amostradas no experimento.....20
- Figura 3.5-** **A e C.** Relação entre biomassa e produção de óleo essencial por hectare em *C. citratus* e *C. flexuosus* respectivamente, submetidas a diferentes fontes nitrogenadas, aos 160 DAP. **B e D.** Relação entre a quantidade de nitrogênio na folha e produção de óleo essencial.....31
- Figura 4.1-** Análise química de nutrientes na folha de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf): **A.** Moagem das folhas secas. **B.** Moinho Willye Super Modelo STAR FT-80. **C.** Amostras homogêneas com granulometria 0,2 mm. **D.** Cadinhos de porcelana com 1 g de amostra incinerada em mufla a 500 °C. **E.** Digestão ácida com HCl 3 mol L⁻¹. **F.** Filtragem da diluição para análise em plasma indutivamente acoplado (Varian 720-ES).....44

Figura 4.2- Análise de componentes principais (ACP). Correlação entre os teores de nutrientes (%), produção de massa seca (ms) (kg ha^{-1}) e teor de óleo essencial (óleo) (g kg^{-1}) de <i>C. citratus</i> e <i>C. flexuosus</i> colhidas aos 160 DAP (A) e 220 DAP (B).....	54
Figura 5.1- Plantio em casa de vegetação de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf). A. Mudanças com poda de raiz e folhas à altura de 3 cm acima do meristema apical e radicial. B. Disposição dos vasos com as mudas. C. Medição da altura máxima de 80 cm atingida em <i>Cymbopogon citratus</i> . D. Medição da altura máxima de 140 cm atingida em <i>Cymbopogon flexuosus</i>	65
Figura 5.2- Relação entre as doses de N e a produção de massa seca por planta em <i>C. flexuosus</i> aos 150 DAP.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.....	18
Tabela 3.2- Características químicas das compostagens utilizadas no experimento. Pinhais, PR, 2013.....	21
Tabela 3.3- Características químicas e físicas das compostagens: pH, condutividade dS m ⁻¹ , umidade (%), quantidade de compostagem aplicada por hectare (Composto kg ha ⁻¹) ou por cova de plantio (Composto g cova ⁻¹), considerando a dose de 40 kg N ha ⁻¹	21
Tabela 3.4- Número de perfilhos, altura e área foliar de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) com a aplicação de diferentes fontes nitrogenadas aos 160 DAP.....	24
Tabela 3.5- Número de perfilhos, altura e área foliar de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) com a aplicação de diferentes fontes nitrogenadas aos 220 DAP.....	25
Tabela 3.6- Efeito das fontes de N e as espécies <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) sobre a produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial na folha aos 160 DAP.....	26
Tabela 3.7- Efeito das fontes de N e as espécies <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) sobre a produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial na folha aos 220 DAP.....	26
Tabela 3.8- Eficiência fisiológica para a produção de biomassa e de óleo essencial em <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 160 DAP.....	29
Tabela 3.9- Eficiência fisiológica para a produção de biomassa e de óleo essencial em <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 220 DAP.....	30
Tabela 3.10- Percentual dos principais compostos do óleo essencial extraído de folhas frescas de capim-limão aos 160 e 220 DAP.....	32
Tabela 4.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.....	43

Tabela 4.2- Características químicas das compostagens utilizadas no experimento. Pinhais, PR, 2013.....	43
Tabela 4.3. Teor e conteúdo de C, N e relação C/N nas folhas de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 160 e 220 DAP.....	48
Tabela 4.4- Teor e conteúdo de P, K, Mg e Ca nas folhas de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 160 e 220 DAP.....	49
Tabela 4.5- Teor e conteúdo de Cu, Fe, Mn e Zn nas folhas de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 160 e 220 DAP.....	51
Tabela 4.6- Equações de regressão e coeficientes de correlação (r) entre o teor de citral (Y) e os teores de nutrientes (X) encontrados em folhas de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 160 e 220 DAP.....	53
Tabela 5.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.....	64
Tabela 5.2- Efeito das doses de N sobre a altura (cm), nº de folhas, área foliar (cm ²), massa fresca (g planta ⁻¹), massa seca (g planta ⁻¹) e teor de óleo essencial aos 90 e 150 DAP em <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey; p <0,05).....	70
Tabela 5.3- Composição química do óleo essencial em <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Cf) aos 90 e 150 DAP.....	71

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de capim-limão tem importância econômica para a indústria por ser fonte de citral, um composto químico que se encontra no óleo essencial, em alta concentração e que é utilizado como tempero na gastronomia, saborizante e aromatizante na indústria de alimentos e como matéria-prima na fabricação de perfumes, cosméticos, produtos de limpeza, higiene pessoal, medicamentos e agroquímicos. Além disso, possui uso potencial para a produção de etanol a partir do material lignocelulósico resultante da extração do óleo essencial (ZHELJAZKOV *et al.*, 2011).

A espécie de capim-limão cultivada no Brasil é *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, mas já começa ser substituída pela espécie *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, por apresentar maior produtividade tanto de massa vegetal quanto de óleo essencial com composição química semelhante à *C. citratus* (EPAGRI, 2010). Ambas as espécies adaptam-se bem em regiões tropicais e subtropicais, sendo o Brasil um dos países que apresenta condições agroclimáticas favoráveis para sua produção comercial (LORENZI; MATOS, 2002).

O óleo essencial de capim-limão, conhecido mundialmente como lemongrass, apresentou balança deficitária no Brasil entre 2005 a 2008, mesmo com incentivos para aumentar o cultivo interno, não houve resultados positivos nas exportações (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Já entre 2012 e 2014 a exportação brasileira deste óleo essencial continuou sendo nula, registrando no mesmo período uma importação de 5.643 kg por um custo de US\$ (FOB¹) 149.578, caracterizando ao Brasil, como um importador pleno do óleo essencial de capim-limão.

O mercado de óleos essenciais, só pode ser garantido se houver produção vegetal de qualidade e em quantidade suficiente, que além de suprir o mercado, atenda a demanda por plantas aromáticas e medicinais orgânicas (BHATTACHARYA *et al.*, 2008).

A produção de biomassa (especialmente de folhas) é determinante para a produtividade dos compostos secundários de capim-limão, visto que dentro das folhas é sintetizada e armazenada a maior quantidade de óleo essencial.

O elemento nutricional, essencial na produção de folhas é o nitrogênio (N), já que faz parte integral do tecido (1-5% da biomassa seca total) e compostos vegetais como

¹ FOB: *Free On Board* quer dizer que o exportador é responsável pela mercadoria até ela estar dentro do navio, para transporte, no porto indicado pelo comprador (WOLFFENBÜTTEL, 2006)

aminoácidos, proteínas, clorofila, co-enzimas e compostos ativos do metabolismo secundário (HAWKESFORD *et al.*, 2011).

Em média o capim-limão tem 0,74% de N na folha (JOY, 2003) e como gramínea apresenta grande demanda por este nutriente (RAIJ *et al.*, 1996).

O capim-limão, assim como grande parte das plantas aromáticas e medicinais, é cultivado principalmente dentro da agricultura familiar, que tem fácil acesso aos dejetos animais e resíduos vegetais resultantes da atividade agropecuária. Deste modo, a compostagem representa uma fonte de adubação, caracterizada por um alto nível de fertilização, reciclagem de nutrientes e de matéria orgânica para a agricultura (HARGREAVES; ADL; WARMAN, 2008). A compostagem tem sido utilizada ao longo dos séculos para melhorar a fertilidade do solo, sendo amplamente aproveitada pela agricultura orgânica (HECKMAN, 2006).

Levando em conta a tendência mundial pela busca de produtos naturais e o uso das plantas aromáticas e medicinais para algum tipo de moléstia ou quebranto de saúde é indispensável que sejam cultivadas sob o sistema de agricultura orgânica (MAPA/SDC, 2006).

Contudo, o aumento ou diminuição da produção de biomassa e princípios ativos (metabólitos secundários) das plantas aromáticas e medicinais depende de fatores bióticos e abióticos (SHAH; SARAVANAN; GAJBHIYE, 2010), entre eles a adubação. Neste sentido, diversos estudos agrônômicos pesquisam a influência da adubação orgânica e mineral sobre o desenvolvimento do capim-limão, porém poucos avaliam a relação entre a adubação nitrogenada com o teor e produtividade de óleo essencial.

O objetivo geral do trabalho foi avaliar o crescimento e produção de óleo essencial de duas espécies de capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, em resposta a diferentes fontes de adubação nitrogenada, orgânica e mineral. Para tanto, esta dissertação compõe-se de três capítulos, sendo o primeiro deles, a abordagem da produção de biomassa e de óleo essencial decorrente das fontes nitrogenadas, a eficiência fisiológica do N nessa produção e a caracterização química dos componentes majoritários do óleo essencial. No capítulo dois, estudam-se os teores e conteúdos nutricionais acumulados na folha de cada espécie, e no terceiro capítulo, avaliaram-se diferentes níveis de N sintético e seus efeitos no crescimento e produção nas espécies, com a aplicação de cinco níveis de N: 0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES

O género *Cymbopogon* é caracterizado pela variabilidade de espécies em morfologia e quimiotipos, com presença principalmente na zona tropical e subtropical do mundo (NATH *et al.*, 2002). Dentro das espécies mais significativas pelo valor comercial do óleo essencial incluem-se *C. citratus* originária do Oeste da Índia e *C. flexuosus* do Leste (AKHILA, 2010).

Ambas as espécies com metabolismo fotossintético C₄ apresentam capacidade de crescimento em condições de altas temperaturas e intensidades luminosas (HERATH; ORMROD, 1977). Desenvolvem-se bem em todas as regiões do Brasil, especialmente em solos arenosos, porém não são tolerantes às geadas (AMARANTE *et al.*, 2012) à estiagem e ao encharcamento (EPAGRI, 2010).

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf, é uma espécie de hábito perene que cresce espalhando novos brotos de maneira aglomerada, formando uma touceira. Possui rizomas curtos e colmos de 60 a 100 cm de comprimento. Folhas lanceoladas, laminadas de bordas cortantes com nervura central forte, de 45-90 cm de comprimento, 10-20 mm de largura, lígula truncada e um agradável aroma de limão. O florescimento é raro, mas quando acontece apresenta inflorescências em panícula de 30-60 cm de comprimento com espiguetas em pares, sendo o par basal sem aristas e estaminadas, as inflorescências não basais com espiguetas séssil bissexual e aristada. Tem raques frágeis nos nós. Originária da Índia, distribui-se pelas zonas tropicais e subtropicais do mundo todo. Aproximadamente 23 constituintes fazem parte de 97,3% do óleo essencial, onde 33,7% é geranial, 26,5% neral (ambos constituintes do citral), 14,4% compostos minoritários e 25,3% é mirceno, sendo este o causante da baixa solubilidade do óleo essencial em álcool e em consequência do seu baixo valor comercial (KASALI; OYEDEJI; ASHILOKUN, 2001).

A espécie *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson é conhecida no Brasil como capim gigante (EPAGRI, 2010). Apresenta hábito perene, crescimento crepitoso ou que forma touceira, rizomas curtos e bainhas mortas que envolvem o colmo. Atinge um comprimento de 2-3 m com entrenós distais glabros. Possui folhas lanceoladas, laminadas de 50-100 cm de comprimento, 8-15 mm de largura, bordas ásperas e cortantes, de cor verde com matizes azuis ou cinzas e aroma leve de limão. A inflorescência em forma de panícula é grande e muito ramificada em espiguetas emparelhadas em ramos terciários. Das espiguetas

uma é séssil bissexuada e a outra é pedicelada estaminada. Sob esta espécie há a variedade *C. flexuosus* var. *flexuosus*, com caule avermelhado ou roxo, caracteriza-se por ter mais de 85% de citral exibindo boa solubilidade em álcool, pelo que seu valor comercial e qualidade é superior à *C. citratus* (SKARIA *et al.*, 2006). O óleo essencial contém aproximadamente 34 compostos representando 97,9% da sua composição, sendo 33,1% geranial, 30% neral (ambos formadores de citral), 12% de acetato de geranila e 2,6% linalol (CHOWDHURY; TANDON; CHOWDHURY, 2010).

Ambas as espécies monocotiledôneas e aromáticas são amplamente cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais da Índia, Indonésia, África e América do Sul (ANARUMA *et al.*, 2010) para consumo do rizoma e das folhas frescas ou desidratadas na forma de infusão aromática, no preparo de vinhos, cervejas e para uso culinário devido a seu característico aroma de limão (FIGUEIRINHA *et al.*, 2010).

São empregadas na fabricação de medicamentos para tratamento de distúrbios nervosos e digestivos, inflamação, diabetes, e febre (CARBAJAL *et al.*, 1989; FIGUEIRINHA *et al.*, 2010). O citral como principal constituinte de ambas as espécies, apresenta uso potencial na fabricação de um medicamento profilático e terapêutico para o tratamento da dor aguda e crônica da úlcera gástrica causada pelos fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (NISHIJIMA *et al.*, 2014).

O capim-limão é usado industrialmente em bebidas, alimentos, perfumes, produtos para o lar, higiene pessoal, produção de tabaco e como repelente de insetos (GANJEWALA; LUTHRA, 2010). Apresenta ação antioxidante devido à presença de polifenóis (FIGUEIRINHA *et al.*, 2008) e pode ser usado na produção de biocombustíveis, a partir do subproduto vegetal resultante da extração do óleo essencial (ZHELJAZKOV *et al.*, 2011).

2.2. HISTÓRIA

A planta de capim limão há mais de 2000 anos vem sendo utilizada na Índia como uso medicinal. A primeira extração de óleo essencial foi registrada em Filipinas no século XVII. Em 1799 foi introduzida na Jamaica e em 1917 foi cultivada pela primeira vez nos Estados Unidos (JAYASINHA; WARNASURIYA; DISSANAYAKE, 1999). A planta foi assumida como cultura durante e logo após a Segunda Guerra Mundial, devido à escassez de óleos essenciais e demais matérias-primas derivadas, desencadeada pela crise em que permaneceu a China como grande fornecedora na época (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são metabólitos secundários voláteis destilados de plantas aromáticas (GUENTHER, 1948). São mesclas líquidas de muitas substâncias, caracterizadas por um forte odor em geral agradável, de cor amarela a transparente, obtidas de flores, folhas, caules, sementes, cascas, frutos e raízes (STASHENKO, 2010). O termo OE deriva da expressão “quinta essência” inventada por Paracelso Von Hohenheim no século XVI, para nomear o componente eficaz de um remédio (GUENTHER, 1948).

Ao redor de 3000 óleos essenciais têm sido produzidos utilizando pelo menos 2000 espécies de plantas, mas somente 300 tem importância comercial, principalmente para o mercado do sabor, dos aromas e das fragrâncias (BRAAK; LEIJTEN, 1994) sendo reconhecido historicamente o uso dos OE em perfumes e alimentos (BAUER; GARBE; SURBURG, 2001).

Há mais de 2000 anos a destilação foi o primeiro método de extração de OE, sendo o Egito, Índia e Pérsia os pioneiros desta técnica, melhorada pelos árabes no século IX (BAUER; GARBE; SURBURG, 2001). A hidrodestilação, arrastre de vapor, extração por fluido supercrítico, prensagem a frio e extração por enfloração (flores sobre uma placa de gordura que absorve o óleo, retirado depois com solventes orgânicos) são atualmente os diversos métodos para a extração de OE (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

São utilizados industrialmente como aromatizantes em alimentos, bebidas, perfumes, produtos farmacêuticos e cosméticos, também na fabricação de agroquímicos e de biorreguladores (BURT, 2004; HUSSAIN *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2013).

As plantas além de produzirem metabólitos primários como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos, proteínas, lipídios e fontes de energia para viver, também sintetizam uma vasta gama de metabólitos secundários para sobreviver (AHARONI; JONGSMA; BOUWMEESTER, 2005). A produtividade do OE varia desde milésimas por cento até 3% do peso seco da planta (STASHENKO, 2010).

Os metabólitos secundários cumprem um papel importante na proteção e defesa da planta contra o estresse biótico e abiótico: radiação UV, sazonalidade, altitude, poluição, ataque de pragas e doenças ou estresse por nutrientes (DIXON, 1999; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os três grupos principais de metabólitos secundários produzidos pelas plantas são os compostos fenólicos, os terpenos e os compostos nitrogenados, todos produzidos por rotas metabólicas diferentes (SEPÚLVEDA; PORTA; ROCHA, 2004). Os terpenos como

principais constituintes dos OE são sintetizados a partir da glicólise, formando unidades de cinco carbonos (C) denominadas isoprenos. Sucessivas uniões de isoprenos formam monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀) (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

Os isoprenos envolvidos na síntese de terpenóides são isopentenil fosfato (IPP) e dimetil alil fosfato (DMAPP), o primeiro é sintetizado no citoplasma a partir de acetil-CoA dando origem aos C₁₅ e C₃₀, já pela via do mevalonato e sintetizado no cloroplasto o segundo isopreno (DMAPP) que produz C₁₀, C₂₀, C₄₀. Dos estudos bioquímicos, genéticos e moleculares da via mevalônica destaca-se a identificação da enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril CoA redutase (HMGR), que participa também da rota dos terpenos (LEÓN; GARCÍA, 2007).

2.3.1. Importância econômica dos óleos essenciais

De 40.000 a 60.000 toneladas por ano de OE são produzidas com um valor estimado em 700 milhões de dólares, sendo que a produção e consumo aumentam anualmente no mundo todo (DJILANI; DICKO, 2012).

O Brasil é fornecedor de OE, especialmente de cítricos e os seus derivados terpênicos, atividade favorecida pela citricultura do estado de São Paulo. Desde 1998, as quantidades exportadas diminuíram, devido à redução no preço do OE de laranja (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004). No caso do OE de capim-limão, entre 2005 e 2008 reportou-se no país um déficit deste OE mesmo com estímulos para aumentar o cultivo interno (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Entre 2012 e 2014, registra-se que as importações do OE de capim-limão foram de 5.643 kg com um custo de US\$ (FOB) 149.578, com uma baixa exportação, caracterizando ao Brasil, como um importador do OE de capim-limão (BRASIL, 2015).

O estado do Paraná participa com 10% das importações de OE de diversas plantas, sendo o OE de menta japonesa o principal produto para exportação e importação (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004). O estado do Paraná não registra exportações nem importações de OE de capim-limão entre 2012 e 2014 (BRASIL, 2015).

2.4. CITRAL

O Citral (3,7-dimetil-2,6-octadien-1-al) é um composto natural utilizado como saborizante em alimentos, bebidas e aditivos (PARK; HONG; CHOI, 2015). Está conformado pela mescla de dois isômeros geométricos, geranial (*trans*-citral) e neral (*cis*-citral) em uma proporção de 3:2 (SCHIEBERLE; GROSCH, 1989; SHAHI *et al.*, 2005). O óleo essencial de capim-limão rico em citral (NISHIJIMA *et al.*, 2014) é valorizado qualitativamente pelo alto teor deste componente.

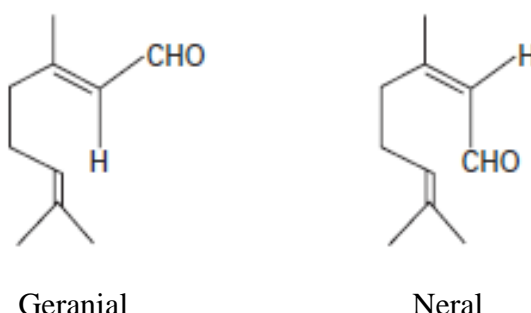


Figura 2.1 - Estrutura química dos constituintes formadores de citral do óleo essencial de capim-limão. Obtido em (SKARIA *et al.*, 2006).

2.5. IMPORTÂNCIA DO N NO METABOLISMO SECUNDÁRIO DE CAPIM-LIMÃO

O nitrogênio (N) é considerado elemento essencial para as plantas, por estar presente em cerca de 1-5% da biomassa seca total, conformando biomoléculas importantes, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas e inúmeras enzimas (MIFLIN; LEA, 1983; (HARPER, 1994) que fazem possível a biossíntese de metabolitos secundários (HAWKESFORD *et al.*, 2011).

Em gramíneas, o N tem efeitos sobre a taxa de alongamento foliar e os incrementos da proporção de folhas que conferem maior área fotossinteticamente ativa, promovendo maior acúmulo de massa seca (MARTUSCELLO *et al.*, 2006), devido a que o efeito da adubação nitrogenada é decorrente da maior produção de células (VOLENEC; NELSON, 1983).

A composição química da folha de capim-limão reporta que cerca de 0,74% é N (JOY, 2003) e como gramínea apresenta grande demanda por este nutriente (CANTARELLA; RAIJ; SAWAZAKI, 1997).

O N é categorizado como um dos nutrientes mais consumidos e também mais caros, utilizado principalmente na forma de fertilizante sintético, sendo a ureia (45% N) a fonte

nitrogenada mais usada no mundo e a mais pesquisada (MALAVOLTA; DE MORAES, 2006).

Elementos nutricionais como o P, K e N podem aumentar, em alguns casos diminuir ou então não afetar os níveis de monoterpenos e produção de óleos essenciais (GERSHENZON, 1984). Ingestad e Lund (1979) observaram que a falta de N causa uma rápida redução na taxa de crescimento (expansão foliar), com mínimos efeitos sobre a biossíntese dos compostos secundários, mas com aumento da concentração destes como resultado da alta densidade de estruturas que armazenam o conteúdo de monoterpenos nas folhas. No entanto, quando há aumento da biomassa a concentração destes pode diminuir (hipóteses de balanço carbono/nutrientes) (GERSHENZON, 1984).

No caso de uma mínima escassez de N as taxas de fotossíntese continuam sendo normais mesmo com o crescimento limitado (CHAPIN, 1980), acumulando carboidratos que podem ser direcionados para produção de metabólitos secundários, que chegam a ter significância na sobrevivência das plantas sob estresse de nutrientes agindo na proteção e defesa da planta (GERSHENZON, 1984). Em espécies de *Cymbopogon* tem sido observado que o amido produzido pela fotossíntese desempenha um papel importante na produção de óleo essencial (SINGH; LUTHRA; SANGWAN, 1991).

2.6. HIPÓTESE DE BALANÇO CARBONO/NUTRIENTES

Plantas que crescem em solos pobres em nutrientes apresentam uma resposta de crescimento lenta, com baixa capacidade fotossintética e de absorção de nutrientes (MOONEY, 1972; GRIME, 1977; CHAPIN, 1980; WASSNER; RAVETTA, 2007).

Em consequência, o metabolismo secundário é ativado para produzir metabólitos ricos em carbono como resposta à condição de estresse nutricional, garantindo uma reserva de C que pode ser usada depois no metabolismo primário (GERSHENZON, 1984).

A disponibilidade de N em si não influencia o metabolismo secundário, senão a quantidade de N que é incorporada na estrutura vegetal (DUSTIN; COOPER-DRIVER, 1992; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

No caso de uma escassez de N, a fotossíntese pode continuar a taxas quase normais, embora com crescimento limitado. Uma deficiência de nutrientes pode ter impacto direto sobre a produção de metabólitos secundários pela inibição da fotossíntese. A diminuição do carbono fixado pode forçar à planta a fechar uma rota metabólica (primária ou secundária).

Teoricamente uma planta pode responder à redução de fotossíntese de três maneiras: diminuindo a produção de metabólitos secundários, enquanto continua reservando fontes para o metabolismo primário; inibindo as fontes para o crescimento e desenvolvimento enquanto continua a síntese de metabólitos secundários; ou reduzindo as fontes tanto para o metabolismo primário quanto para o secundário. No caso de estresse por N pode haver incremento de compostos secundários ricos em carbono, com correlação negativa entre crescimento e produção de metabólitos secundários (CHAPIN, 1980).

O fato de produzir metabólitos secundários ou não, depende do custo de síntese e de armazenamento, do risco ao ataque à planta de insetos e doenças, e do valor energético das estruturas de proteção da planta (GERSHENZON, 1994).

2.7. A FERTILIZAÇÃO NITROGENADA ORGÂNICA E INORGÂNICA

Uma das principais preocupações da nutrição mineral de plantas é a absorção incompleta e conversão deficiente dos fertilizantes nitrogenados, sendo a diminuição e o uso eficiente de N os fatores a melhorar (HIREL *et al.*, 2007). Cerca de 50-70% do N fornecido ao solo é perdido por volatilização de amônia e lixiviação de nitrato, levando conseqüentemente a um risco de poluição e a uma limitante para as culturas em solos agrícolas (MASCLAUX-DAUBRESSE *et al.*, 2010).

O destino do N aplicado pode ser variável de acordo com a relação C/N da biomassa presente no ambiente de cultivo. Se for alta, grande parte do N aplicado será imobilizado pelos microrganismos, portanto pouco desse nutriente estará sujeito a perdas, mas também não poderá ser absorvido pela planta por estar formando parte integral da massa microbiana.

Pelo contrário, sob uma baixa relação C/N da biomassa, grande parte do N será nitrificado e estará disponível para ser absorvido pelas plantas, apesar de estar exposto também a perdas por lixiviação ou desnitrificação (GREGORICH *et al.*, 1997).

A disponibilidade de N para os microrganismos do solo controla a dinâmica de transformação da matéria orgânica (relação C/N), sendo os microrganismos encarregados de regular o equilíbrio entre a imobilização ou fixação e mineralização das formas oxidadas e reduzidas de N (LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2012).

O manejo sustentável do solo busca uma fertilização nitrogenada com menos perdas, que aproveite de forma eficiente o N do solo e o agregado como fertilizante na forma mineral ou orgânica (LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2012), sendo que as duas promovem mudanças na

atividade biológica do solo (biomassa microbiana e o seu metabolismo) com impactos sobre os processos de transformação da matéria orgânica (MARINARI *et al.*, 2007).

Tem-se constatado que a adubação orgânica desempenha um papel mais importante na determinação da atividade microbiana do solo do que os fertilizantes minerais (GERHARDT, 1997; MARINARI *et al.*, 2007), pois a fertilização orgânica resulta em aumento da biomassa, atividade microbiana e materiais orgânicos biodegradáveis que são utilizados como substrato pelos microrganismos endógenos (JENKINSON; POWLSON, 1976). Parte do N proveniente de uma fonte orgânica está inicialmente imobilizado na biomassa microbiana e na fração não mineralizada do solo, que temporariamente vai contribuir como reservatório deste nutriente para as plantas (MALAVOLTA; DE MORAES, 2006).

A adubação orgânica com compostagem de dejetos animais pode ser considerada como uma fonte de N e uma alternativa simples de aproveitar os resíduos, reciclar nutrientes e ativar a biomassa microbiana do solo (TWEIB; RAHMAN; KALIL, 2011) que equilibra as formas assimiláveis de N pelas plantas. Além disso, a compostagem de esterco animal pode ser vista como uma tecnologia que agrega valor por ser um produto de alta qualidade, mais concentrado e uniforme do que o estrume, fácil de armazenar e transportar. A compostagem além de ser fonte e reserva de nutrientes para as plantas, melhora e mantém as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, contribuindo assim na sua qualidade e fertilidade (LARNEY; HAO, 2007) o que em conjunto justificaria em benefícios os custos de produção (PARKINSON *et al.*, 2004).

A produção de capim-limão como planta aromática e medicinal é cultivada principalmente por agricultura familiar, que tem fácil acesso aos dejetos animais e resíduos vegetais resultantes da atividade agropecuária. Assim, a compostagem resulta ser atraente para o pequeno produtor, que não vê como restrição o trabalho manual e o período de tempo que precisa ser investido no processo (MISRA, R.V; ROY, R.N; HIRAOKA, 2003). Aliás, de vê-la como uma alternativa simples de aproveitar os resíduos gerados na propriedade e reciclar os nutrientes e a matéria orgânica (TWEIB; RAHMAN; KALIL, 2011).

2.8. A COMPOSTAGEM COMO FONTE ORGÂNICA DE N

Compostagem é definida como um processo biooxidativo natural, que envolve mineralização e humificação parcial dos resíduos orgânicos, em condições controladas (“MAC”SAFLEY *et al.*, 2009; MISRA, R.V; ROY, R.N; HIRAOKA, 2003). Durante o processo a matéria orgânica é biodegradada por uma população diversificada de

microrganismos, cuja atividade permite o aumento de temperatura, contribuindo com a destruição de patógenos e sementes indesejáveis, obtendo um produto final estabilizado e escuro com uma fracção de carbono, nitrogênio e nutrientes que dependente da maturidade da compostagem (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009).

A compostagem tem demonstrado ser uma técnica valiosa para a reciclagem de uma variedade de resíduos orgânicos (ROS *et al.*, 2006) que permite a recuperação de solos degradados e a gestão sustentável das terras agrícolas (SÁNCHEZ-MONEDERO *et al.*, 2001).

Considerando que os resíduos de origem animal e vegetal apresentam altos conteúdos de carbono orgânico que podem ser empregados para melhorar as características físicas e aportar nutrientes ao solo, mas que ao mesmo tempo, representam uma problemática por ser um passivo ambiental rural e urbano, a compostagem apresenta-se como alternativa para o seu manejo (VÁZQUEZ, 2010). A compostagem de dejetos animais gera múltiplos benefícios como produto final para o meio rural onde se origina (INÁCIO; MILLER, 2009), pois promove a reciclagem de nutrientes e de matéria orgânica (TWEIB; RAHMAN; KALIL, 2011).

Durante a primeira fase do processo, os compostos simples de carbono são facilmente mineralizados e metabolizados por bactérias, fungos e pequenos microartrópodes, reduzindo o volume dos resíduos, liberando H₂O na forma de vapor, CO₂, NH₃, ácidos orgânicos e calor (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009). O aumento de temperatura que é atingido durante a compostagem, contribui para a destruição de patógenos e sementes indesejáveis associadas à aplicação direta de dejetos animais, obtendo um produto final estabilizado e escuro, que pode ser utilizado para melhorar e manter as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (LARNEY; HAO, 2007).

O Brasil nos últimos anos tem apresentado altos índices de crescimento na produção pecuária, possuindo o segundo maior rebanho de bovinos do mundo com cerca de 200 milhões de cabeças, sendo suplantado apenas pela Índia (MAPA, 2014). Com aproximadamente 490.690 bovinos em confinamento para 2012 a produção cresce a cada ano, gerando conseqüentemente grandes quantidades concentradas de dejetos que constituem uma fonte de poluição para o solo e recursos hídricos (TIMOFIECSYK *et al.*, 2012).

Nos sistemas estabulados de gado leiteiro a quantidade de estrume pode ser um problema de manejo. Cerca de 17 a 18.5 ton vaca⁻¹ ano são produzidos no sistema estabulado e sob sistemas não estabulados de 12 a 14 ton vaca⁻¹ ano, enquanto na produção de frango de

corte se atingem proporções de 4 a 5 ton 1000 frangos $^{-1}$ ano (KONZEN; ALVARENGA, 2005) e na produção caprina em média uma produção de 600 kg cabra adulta $^{-1}$ ano.

A compostagem se constitui, em uma técnica importante para o tratamento dos dejetos animais oriundos da propriedade que agrega valor por gerar um produto de alta qualidade, mais concentrado e uniforme do que o estrume, fácil de armazenar e transportar (BERNAL; ALBURQUERQUE; MORAL, 2009), com múltiplos usos agrícolas como substrato e como adubo de liberação lenta de nutrientes, não ocorrendo saturações na solução do solo, principalmente com nitrogênio (INÁCIO; MILLER, 2009). Além dos resíduos animais, as propriedades agrícolas produzem vários tipos de resíduos vegetais, que contém macro e micro nutrientes que em princípio foram extraídos pelas colheitas agrícolas, sendo nesta medida importante a sua reciclagem, o que pode proporcionar a substituição ou redução no uso de fertilizantes minerais (LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2012).

3. FONTES NITROGENADAS NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus* E *Cymbopogon flexuosus*

RESUMO

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, (Poaceae) são plantas aromáticas perenes que produzem óleo essencial rico em citral utilizado na indústria de alimentos, farmacêutica e cosmética. O estudo teve por objetivo avaliar o efeito de fontes nitrogenadas sobre o desenvolvimento de *C. citratus* e *C. flexuosus*, a produção de óleo essencial e a eficiência fisiológica do N para a produção de biomassa e óleo essencial aos 160 e 220 dias após plantio (DAP). O experimento foi conduzido em campo, sob um desenho experimental em blocos ao acaso comparando o efeito de quatro fontes nitrogenadas (compostagem de dejetos bovino, de dejetos caprino, de camada avícola e ureia) em ambas as espécies, com quatro repetições, cada uma com dez parcelas e 25 plantas. Os resultados revelaram que as fontes nitrogenadas não afetaram a produção de biomassa, a produção de óleo essencial, nem a sua composição para ambas as espécies aos 160 DAP. *C. flexuosus* quando fertilizada com compostagem de dejetos bovino, resultou em diminuição do acúmulo de biomassa fresca e seca e produção de óleo essencial aos 220 DAP. O aumento da produção de óleo essencial com a fertilização nitrogenada foi devido ao aumento da biomassa foliar. *C. flexuosus* produziu maior biomassa e óleo essencial quando comparada com *C. citratus*. O teor de óleo essencial em *C. citratus* foi 17,7 g kg⁻¹ aos 160 DAP e 21,3 g kg⁻¹ aos 220 DAP, aproximadamente 50% a mais em relação a *C. flexuosus* que produziu 10,0 g kg⁻¹ e 8,4 g kg⁻¹ respectivamente. *C. flexuosus* foi mais eficiente fisiologicamente no uso do N para a produção de biomassa do que *C. citratus* em ambas as colheitas. As fontes nitrogenadas não afetaram a composição do óleo essencial. Os principais componentes do óleo essencial de *C. citratus* foram geranial (39,7-42,2%), neral (29,6-31,1%), geraniol (4,4-5,7%) e β -mirceno (11,7-15,2%) enquanto *C. flexuosus* apresentou geranial (43,6-50,7%), neral (29,3-34,4%), geraniol (1,6-7,5%) e ausência de β -mirceno.

Palavras-chave: Capim-limão, compostagem, dejetos, citral, β -mirceno.

NITROGEN SOURCES ON GROWTH, PRODUCTION AND QUALITY OF ESSENTIAL OIL IN *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon flexuosus*

ABSTRACT

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf and *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, (Poaceae) are perennial aromatic plants which produce essential oil rich in citral used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. This study aimed to evaluate the effect of nitrogen sources on *C. citratus* and *C. flexuosus* development, essential oil production and physiological efficiency of nitrogen for biomass and essential oil production at 160 and 220 days after planting (DAP). The experiment was carried out at field conditions in a randomized block design comparing the effect of four nitrogen sources (compost of bovine, goat and poultry manure and urea) of both species, with four replications, each one with ten plots and twenty-five plants. The results showed that the nitrogen sources did not affect the biomass production and essential oil yield and composition of both species at 160 DAP. *C. flexuosus* fertilized with bovine manure compost resulted on decrease of fresh and dry biomass accumulation and essential oil yield at 220 DAP. The increase of essential oil production by nitrogen fertilization was due to the increase of leaf biomass. *C. flexuosus* produced higher biomass and essential oil yield than *C. citratus*. The essential oil yield of *C. citratus* was 17.7 g kg⁻¹ at 160 DAP and 21.3 g kg⁻¹ at 220 DAP, approximately 50% higher than *C. flexuosus* that reached 10.0 g kg⁻¹ and 8.4 g kg⁻¹, respectively. *C. flexuosus* was also more efficient in the use of physiological nitrogen for biomass production than *C. citratus* in both cuts. The nitrogen source did not affect the essential oil composition. The major components of the essential oil of *C. citratus* were geranial (39.7 to 42.2%), neral (29.6 to 31.1%), geraniol (4.4 to 5.7%) and β -myrcene (11.7 to 15.2%) while *C. flexuosus* presented geranial (43.6 to 50.7%), neral (29.3 to 34.4%), geraniol (1.6 to 7.5%) and absence of β -myrcene.

Keywords: lemongrass; compost; manure; citral; β -myrcene

3.1. INTRODUÇÃO

Cymbopogon citratus (DC) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson (Poaceae) são gramíneas perenes com metabolismo C₄ utilizadas amplamente para extração de óleo essencial rico em citral, valioso composto químico para a indústria de alimentos e do sabor.

Ambas as espécies conhecidas como capim-limão do ocidente e leste das Índias respectivamente, produzem de 75% a 85% de citral (LEWINSOHN *et al.*, 1998).

As folhas destas espécies são consumidas em chá e como tempero pela gastronomia devido ao seu característico odor a limão (AKHILA, 2010). Além disso, apresenta uso potencial como princípio ativo de um medicamento profilático e terapêutico para o tratamento da inflamação, dor aguda, crônica e úlcera gástrica causada pelos fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (NISHIJIMA *et al.*, 2014).

O óleo essencial é empregado pela indústria alimentar como saborizante em bebidas e aditivos (PARK; HONG; CHOI, 2015), também na farmacêutica e cosmética, sendo um insumo importante para a elaboração de perfumes, agroquímicos, síntese de iononas e de vitamina A (GANJEWALA; LUTHRA, 2010). Além disso, pode ter aplicações para a produção de biocombustíveis, utilizando como matéria prima a biomassa que fica como subproduto da extração do óleo essencial (ZHELJAZKOV *et al.*, 2011).

O aldeído citral (3,7-dimetil-2,6-octadien-1-al), é um monoterpreno formado pela proporção 3:2 dos isômeros geométricos geranial (*trans*-citral) e neral (*cis*-citral) (SCHIEBERLE; GROSCH, 1989; SHAHI *et al.*, 2005), sendo estes os compostos majoritários e de interesse econômico. Outros constituintes monoterpênicos são o linalool, limoneno e β -mirceno, empregados para conferir aroma aos produtos de limpeza, sabor a limão aos alimentos industrializados e ação anti-inflamatória (AKHILA, 2010).

A biossíntese destes monoterpenos está associada com a presença de células acumuladoras (SERRATO-VALENTI *et al.*, 1997), localizadas no tecido parenquimatoso da folha (LEWINSOHN *et al.*, 1998), o que explica a importância da produção de biomassa foliar como fator determinante para a produção de óleo essencial (SANGWAN *et al.*, 2001). Assim, a produção de folhas no capim-limão pode estabelecer a quantidade de óleo essencial a obter.

Nutricionalmente o nitrogênio (N), é o elemento essencial que está presente em maior quantidade na folha, fazendo parte integral do tecido vegetal em cerca de 1-5% da biomassa

seca total, formando aminoácidos, proteínas, clorofila e enzimas que permitem a formação dos compostos ativos do metabolismo secundário (HAWKESFORD *et al.*, 2011).

Neste sentido, Ingestad e Lund (1979) observaram que a falta de N causa uma rápida redução na taxa de crescimento (expansão foliar), com mínimos efeitos sobre a biossíntese dos compostos secundários, mas com aumento da concentração destes como resultado da alta densidade de estruturas que armazenam o conteúdo de monoterpenos nas folhas. No entanto, quando há aumento da biomassa a concentração destes pode diminuir (hipóteses de balanço carbono/nutrientes) (GERSHENZON, 1994). Assim, os macronutrientes N, P, K podem afetar a produção de óleos essenciais como resposta indireta à diminuição das taxas de crescimento (GERSHENZON, 1984; INGESTAD; LUND, 1979).

Segundo Joy (2003) em média uma folha de capim-limão é constituída por 0.74% de N, sendo que como gramínea possui alta demanda pelo nutriente (CANTARELLA; RAIJ; SAWAZAKI, 1997) e também alto custos de produção, quando fornecido através de adubos sintéticos como a ureia (45% N) (MALAVOLTA; DE MORAES, 2006).

Os produtores de plantas aromáticas e medicinais como o capim-limão, enquadram-se na categoria de agricultura familiar (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004), que tem fácil acesso aos dejetos animais e resíduos vegetais resultantes da atividade agropecuária. Deste modo, a elaboração de compostagens a partir destes insumos pode ser uma forma simples de aproveitar os resíduos, reciclar os nutrientes, a matéria orgânica e ao mesmo tempo atender à demanda crescente de plantas produzidas organicamente (TWEIB; RAHMAN; KALIL, 2011; SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004).

Alguns autores recomendam o uso preferencial da adubação orgânica sobre a adubação mineral no cultivo do capim-limão (ORTIZ; MARRERO; NAVARRO, 2002; TEDESCO *et al.*, 2004), tornando-se necessária a realização de estudos que relacionem a influência da adubação orgânica sobre a produção de biomassa, teor de óleo essencial e de citral (GOMES; NEGRELLE; FILHO, 2007).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de quatro fontes nitrogenadas; compostagem de dejetos bovino, de dejetos caprino, cama de avícola e ureia, no crescimento, produção e qualidade do óleo essencial de duas espécies de capim-limão, *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon flexuosus*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Localização e implantação do experimento

O experimento foi realizado entre outubro de 2013 e maio de 2014 na área experimental de plantas aromáticas e medicinais da Fazenda Experimental Cangüiri (CEEx), Universidade Federal do Paraná (UFPR), município de Pinhais, Paraná, Brasil, localizada a 25°23'12.3"S de latitude, 49°07'33.2"W de longitude e 920 m de altitude. A região segundo Köppen apresenta clima temperado do tipo Cfb, mesotérmico úmido, sendo que no decorrer do experimento apresentou-se precipitação média mensal de 115,3 mm (Figura 3.1), temperatura mínima 15 °C, temperatura média 18,8 °C, temperatura máxima 24,7 °C (Figura 3.2), com ocorrência de três geadas durante o período do experimento (SIMEPAR, 2014).

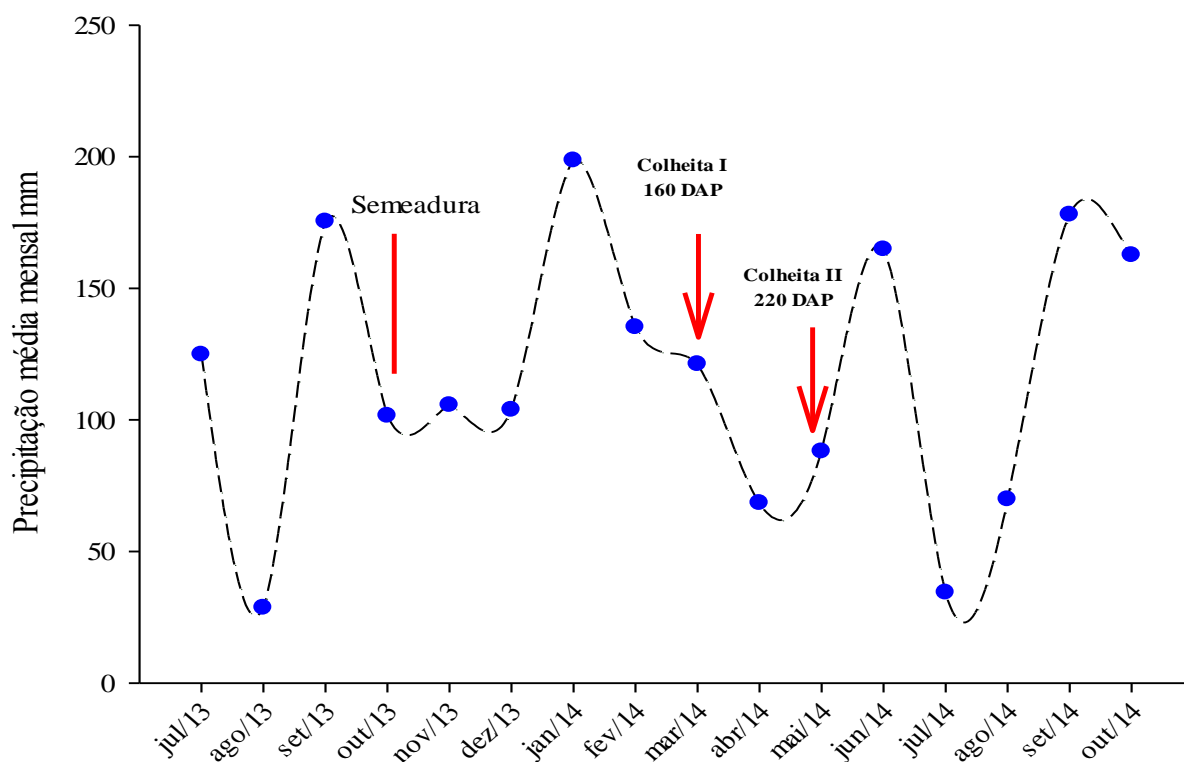


Figura 3.1- Precipitação média mensal (mm) ocorrida no município de Pinhais-Brasil entre julho de 2013 e outubro de 2014. As flechas indicam o mês em que foi realizada a semeadura (22-24/10/2013) e os meses de colheitas: colheita I (18-24/03/2014) e colheita II (14-19/05/2014).

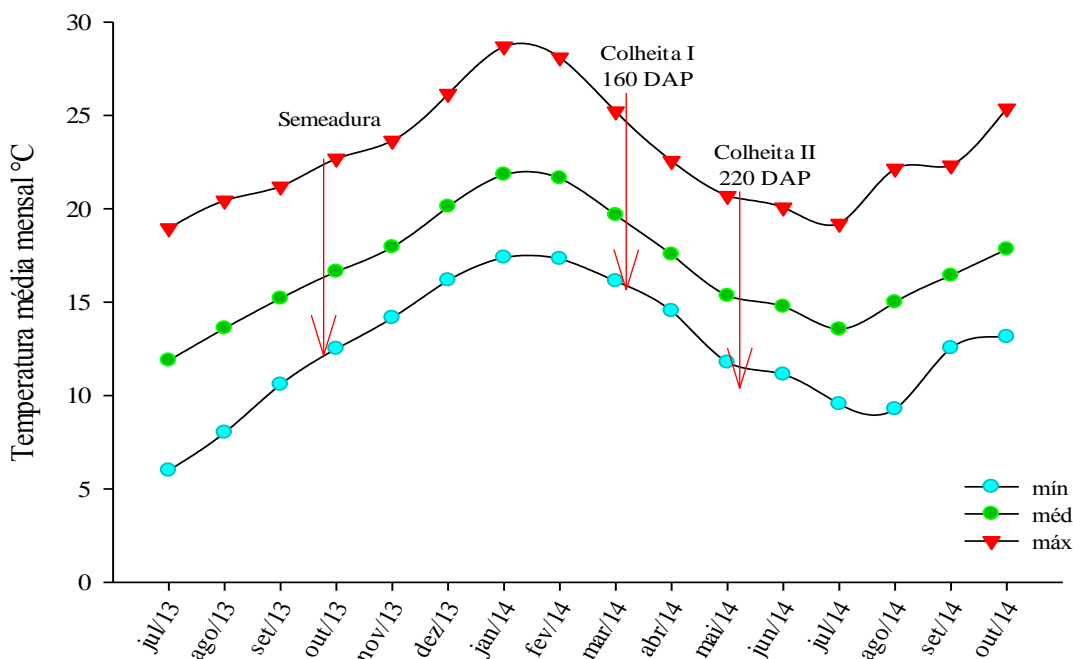


Figura 3.2- Temperaturas mínima, média e máxima (°C) ocorridas no município de Pinhais-Brasil entre julho de 2013 e outubro de 2014.

Para a caracterização química do solo, foram coletadas amostras nas profundidades 0-10 cm e 10-20 cm e posteriormente analisadas no Laboratório de Fertilidade do Solo da UFPR, cujos resultados constam na Tabela 3.1.

O pH foi determinado com CaCl_2 0,01M, H+Al pelo método SMP, C orgânico pelo método colorimétrico, P e K pelo método de Mehlich, Ca, Mg e Al extraídos com KCl 1N, todos segundo metodologia descrita por (PAVAN, 1992).

Tabela 3.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.

cm	pH	P	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	V	MO
	CaCl ₂	mg dm ⁻³	cmolc dm ⁻³ %
0-10	5,0	158,4	0	4	9,6	3,4	1,3	14,3	18,3	78	6,8
10-20	5,9	168,0	0	4	9,6	3,3	1,2	14,1	18,1	78	5,7

P= fósforo extraído por Melich-1; SB= soma de bases; T= capacidade de troca catiônica efetiva; V= saturação por bases; MO= matéria orgânica.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2x5, com quatro repetições, cada uma com 10 parcelas e semeadas 25 plantas por cada parcela. Foram comparadas duas espécies de capim-limão, *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Ness ex Steud.) Wats (Figura 3.3) em resposta a quatro diferentes fontes nitrogenadas, compostagem de dejetos bovino (C₁ Bovino), compostagem de dejetos caprino

(C₂ Caprino), compostagem de camada avícola (C₃ Avícola), ureia e a testemunha sem nitrogênio (N). A dose aplicada foi única de 40 kg N ha⁻¹.

Identificaram-se as espécies do estudo depositando a exsicata de *C. citratus* no herbário do Jardim Botânico de Curitiba com o número 389414 e o espécimen de *C. flexuosus* no herbário Royal Botanic Gardens, Kew com o número H2014/02284.



Figura 3.3- Aspecto visual das duas espécies de capim-limão. **A.** *Cymbopogon flexuosus* (Cf). **B.** *Cymbopogon citratus* (Cc).

Foram instaladas parcelas de 4 x 2 m, em uma área de 630 m² constituindo 20 parcelas de cada espécie (Figura 3.4 A). O plantio foi realizado manualmente na terceira semana de outubro de 2013 com prévio preparo das mudas. Separaram-se perfilhos das touceiras, com posterior poda de raízes e de folhas à altura de 10 cm acima do meristema apical. Foram plantadas duas mudas por cova, com um espaçamento de 1 m entre linhas de semeadura e 0,50 m entre plantas. A parcela útil foi composta pelas 9 plantas centrais da parcela (Figura 3.4 B).

Instalou-se um sistema de irrigação por aspersão, sendo irrigado o cultivo a cada três dias de não ocorrência de chuva. O controle de plantas espontâneas foi realizado manualmente.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas utilizou-se o programa Assistat versão 7.7 beta (SILVA, 2015).

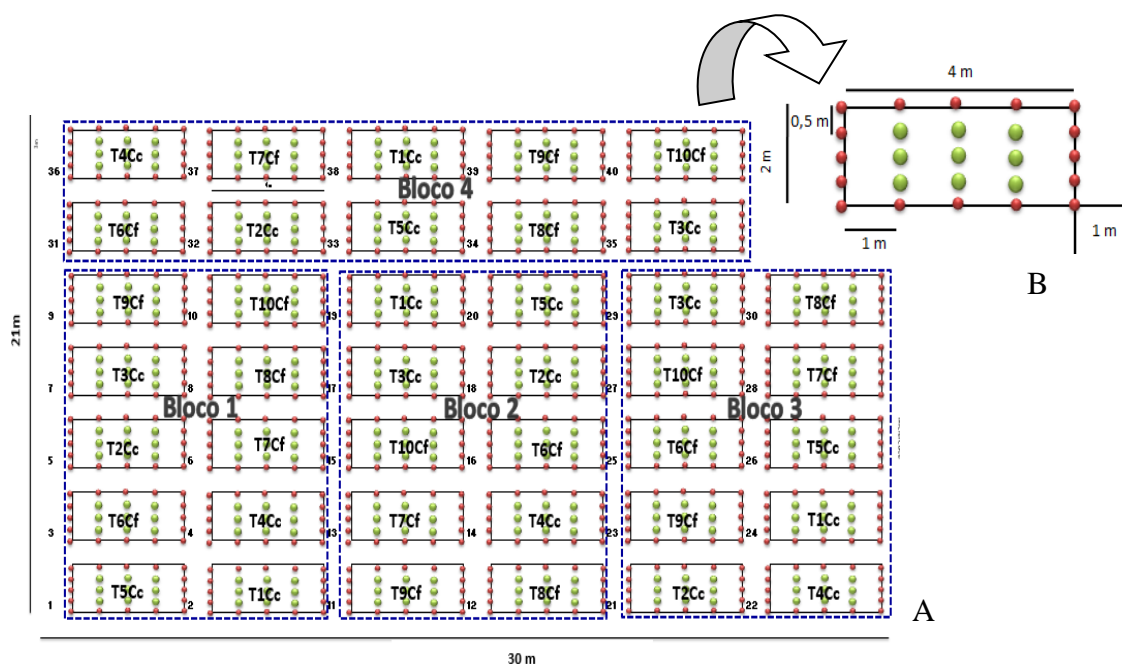


Figura 3.4- A. Croqui do experimento com os quatro blocos e as parcelas de 4•2 m com os 10 tratamentos em uma área de 630 m². T1 e T6: testemunha 0 kg N ha⁻¹; T2 e T7: ureia como fonte nitrogenada 40 kg N ha⁻¹; T3 e T8: compostagem de dejetos bovino (C₁ Bovino); T4 e T9: compostagem de dejetos caprino (C₂ Caprino); T5 e T10: compostagem de cama avícola (C₃ Avícola), sendo as compostagens aplicadas na proporção de 40 kg N ha⁻¹. Cc: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e Cf: *Cymbopogon flexuosus* (Ness ex Steud.) Wats. **B.** A flecha indica o detalhe do espaçamento e o número de plantas por parcela: os pontos verdes do meio representam as nove plantas amostradas por parcela útil e os pontos vermelhos, as dezesseis plantas da bordadura não amostradas no experimento.

3.2.2. Adubação

Foram aplicados 40 kg N ha⁻¹ em função do teor de matéria orgânica do solo (Tabela 3.1) de acordo com a recomendação para a adubação de capim-limão do manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina da Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFS RS/SC) (TEDESCO *et al.*, 2004).

No momento do plantio, a adubação orgânica e mineral foi incorporada à cova. A quantidade de compostagem a ser usada foi calculada com a equação $[W_s = 100/(100-W)]$, sendo W_s a umidade em base seca e W a umidade de cada compostagem no momento de ser aplicada, estimada com a equação $\%umidade = [(W_u - W_s)/W_u] \times 100$, sendo W_u : peso da amostra úmida (10 g) e W_s : peso da amostra seca. Assim para 1000 kg de C₁ Bovino seca, foram calculados 1499,25 kg de compostagem úmida, para C₂ Caprino 1562,5 kg e para C₃ Avícola 1499,25 kg. Cada um destes valores foi multiplicado por 40 kg ha⁻¹ e o resultado

dividido pelo teor de N de cada compostagem (Tabela 3.2), para obter finalmente a quantidade de composto equivalente a 40 kg N ha⁻¹ (Tabela 3.3).

Tabela 3.2- Características químicas das compostagens utilizadas no experimento. Pinhais, PR, 2013.

Compostagem	N	C	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
 (g kg ⁻¹) (mg kg ⁻¹)			
C ₁ Bovino	7,2	100,9	0,9	1,2	9,0	2,4	4111	174	8	34
C ₂ Caprino	7,0	93,1	1,6	2,2	9,4	2,2	4195	167	9	48
C ₃ Avícola	12,6	147,5	8,4	5,4	23,8	6,3	4997	359	26	186

C₁ Bovino: Compostagem de dejetos bovino; C₂ Caprino: Compostagem de dejetos caprino; C₃ Avícola: Compostagem de cama avícola.

No tratamento com ureia, aplicou-se no plantio 18 kg ha⁻¹, sendo incorporados na cova da mesma maneira que os outros adubos, e os restantes 22 kg ha⁻¹, depois do primeiro corte aos 160 dias, sendo aplicados a lanço, em função de um sistema radicular mais desenvolvido com capacidade de absorção do N fornecido e recomendação da CQFS RS/SC.

As compostagens foram preparadas por decomposição aeróbica dos dejetos bovino, caprino e de cama avícola, durante um período de 45 dias entre os meses de julho e agosto de 2013, obtendo como produto final um substrato de aspecto uniforme, homogêneo, solto, cor marrom escura a preta, ausência de odor, umidade inferior de 60%, pH entre 6 e 7 e características químicas finais conforme Tabela 3.3.

Após processo de compostagem, as fontes orgânicas de N foram peneiradas, embaladas em sacos de 50 kg e armazenadas até serem usadas no plantio.

Tabela 3.3- Características químicas e físicas das compostagens: pH, condutividade dS m⁻¹, umidade (%), quantidade de compostagem aplicada por hectare (Composto kg ha⁻¹) ou por cova de plantio (Composto g cova⁻¹), considerando a dose de 40 kg N ha⁻¹.

Compostagem	pH	Condutividade (dS m ⁻¹)	Umidade (%)	Composto (kg ha ⁻¹)	Composto (g cova ⁻¹)
C ₁ Bovino	6,7	42,6	33,3	8329,2	416
C ₂ Caprino	6,7	85,6	36,0	8928,6	446
C ₃ Avícola	7,1	60,7	33,3	4759,5	238

C₁ Bovino: Compostagem de dejetos bovino; C₂ Caprino: Compostagem de dejetos caprino; C₃ Avícola: Compostagem de cama avícola.

3.2.3. Medição das variáveis de crescimento

Realizaram-se duas colheitas: a primeira em março de 2014, 160 DAP e a segunda em maio de 2014, aos 220 DAP.

Nas duas colheitas foram avaliadas as variáveis, altura da planta, número de perfilhos, massa fresca, massa seca e produção de óleo essencial das nove plantas da parcela útil (Figura 3.3). A determinação da altura foi realizada com trena graduada (em centímetros) a partir da superfície do solo até a extremidade da folha mais alta e o número de perfilhos de toda a touceira, por contagem manual. A massa fresca foi obtida do peso total de folhas frescas das plantas de cada parcela útil, colhidas a uma altura de 5 cm acima do meristema apical. A massa seca foi obtida de subamostras de 50 g frescas que foram secas em estufa a 65°C até peso constante. Foi mensurada a área foliar de 10 folhas completas coletadas aleatoriamente por parcela, por meio do programa computacional WinRHIZO®, acoplado a um Scanner LA1600 (Règent Instruments Inc.- Canadá).

Foi determinado o teor de N na folha, coletando outras 50 g frescas de folhas das espécies após cada colheita, sendo secas, moídas, pesadas (20 mg aproximadamente) e empacotadas em cápsula de estanho, para posterior combustão seca em analisador elementar modelo Vario EL III® do Laboratório de Biogeoquímica (método de Dumas ou análise elementar).

3.2.4. Extração de óleo essencial

A extração de óleo essencial foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia, por hidrodestilação durante 2 horas, em aparelho graduado tipo Clevenger, utilizando 100 g de folhas frescas. Após a extração, as amostras de óleo foram coletadas com micropipeta monocal e armazenadas em frascos Eppendorf de 2 ml a -20 °C até análise de composição química. Quantificaram-se amostras de óleo essencial a partir da determinação da densidade pesando alíquotas de 50 µL do volume total extraído. Foi calculada a produtividade (kg ha⁻¹) e a concentração (g kg⁻¹) de óleo essencial a partir da massa seca das folhas.

3.2.5. Identificação e quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial

A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial de *C. citratus* e *C. flexuosus* foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Os óleos essenciais foram diluídos em diclorometano na proporção de 1 % e 1,0 µL da solução foi injetada, com divisão de fluxo de 1:20 em um cromatógrafo de gases (CG) modelo *Agilent Technologies* 6890 (Palo Alto, CA, EE.UU) acoplado a detector seletivo de

massas (MSD) modelo *Agilent Technologies* 5973N. O injetor foi mantido a 250°C. A separação dos constituintes foi obtida em coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e utilizando hélio como gás carreador (1,0 mL min⁻¹). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240 °C a uma taxa de 3 °C min⁻¹.

O detector de massas foi operado no modo ionização eletrônica (70 eV), a uma taxa de 3,15 varreduras min⁻¹ e faixa de massas de 40 a 450 u. A linha de transferência foi mantida a 260 °C, a fonte de íons a 230 °C e o analisador (quadrupolo) a 150 °C.

Para a quantificação, as amostras diluídas foram injetadas em cromatógrafo *Agilent Technologies* 7890A equipado com detector de ionização por chama (DIC), operado a 280 °C.

Foi empregada a mesma coluna analítica e condições descritas acima, exceto pelo gás carreador usado, que foi o hidrogênio, a uma vazão de 1,5 mL min⁻¹. A composição percentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (área %).

A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com aqueles das espectrotescas WILEY 275 (NIST, 2013), bem como pela comparação dos seus índices de retenção linear calculados com a equação 3.1, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C₇-C₂₆) comparados com dados da literatura (ADAMS, 2009).

$$I_k = 100n + 100 \left[\frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right]$$

Equação 3.1- I_k é o índice de retenção do composto de interesse e t_{RX} o seu tempo de retenção; n é o número de átomos de carbono do n-alcane eluido antes do composto de interesse e t_{Rn} o seu tempo de retenção; N o número de átomos de carbono do n-alcane eluido depois do composto de interesse e t_{RN} o seu tempo de retenção.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Número de perfilhos, altura e área folhar aos 160 e 220 DAP

As fontes nitrogenadas não interferiram no número de perfilhos de *C. citratus* e *C. flexuosus* aos 160 DAP (Tabela 3.4). As variáveis altura e área foliar apresentaram interação significativa em relação às espécies e fontes nitrogenadas. A espécie *C. flexuosus* foi superior em número de perfilhos, altura e área foliar comparada com *C. citratus* ($p < 0,01$). Houve redução significativa da altura em *C. flexuosus* quando se utilizou compostagem de dejetos bovino, em comparação com a testemunha. A área foliar foi reduzida quando se adubou com ureia e compostagem de dejetos caprino.

Tabela 3.4- Número de perfilhos, altura e área foliar de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) com a aplicação de diferentes fontes nitrogenadas aos 160 DAP.

Fontes de N (40 kg ha ⁻¹)	Perfilhos		Altura (cm)				Área foliar (cm ²)			
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
Testemunha	18,5	61,0	63,3	Ab	150,9	Aa	53,2	Ab	124,4	Aa
Ureia	24,0	55,8	67,2	Ab	136,8	ABa	57,3	Ab	86,4	Ba
C ₁ Bovino	22,0	48,0	67,2	Ab	124,7	Ba	60,2	Ab	98,2	ABa
C ₂ Caprino	30,2	59,9	66,3	Ab	143,6	Aa	54,4	Ab	88,9	Ba
C ₃ Avícola	27,2	52,7	65,4	Ab	139,7	ABa	56,1	Ab	122,7	Aa
Média	24,4	b	55,5	a	65,8		139,1		56,2	104,1
CV (%)	24,5		7,2				17,2			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de cama avícola. ^{ns} não significativo.

Aos 220 DAP houve interação apenas para a variável altura, sendo diminuída com o uso da compostagem de dejetos bovino na espécie *C. flexuosus* (Tabela 3.5). Para todas as variáveis, *C. flexuosus* foi superior a *C. citratus* ($p < 0,01$). Esta diferença é decorrente das características morfológicas específicas de cada espécie. A primeira é uma planta que pode atingir de 2 a 3 m de altura, com presença de numerosos perfilhos que se desenvolvem até a formação de caules quebradiços, enquanto a segunda espécie pode crescer até 1 m de altura, sem presença de caules, mas sim de perfilhamento proveniente do curto rizoma que forma grandes touceiras (SKARIA *et al.*, 2006). Outra diferença entre espécies é o desenvolvimento de inflorescências em *C. flexuosus*, sendo que nesta experimentação a espécie floresceu no começo do inverno de 2013. Todas as inflorescências foram removidas para não prejudicar a produção, segundo recomendação da Epagri, (2010).

Tabela 3.5- Número de perfilhos, altura e área foliar de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) com a aplicação de diferentes fontes nitrogenadas aos 220 DAP.

Fontes de N (40 kg ha ⁻¹)	Perfilhos		Altura (cm)		Área foliar (cm ²)							
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf						
Testemunha	25,3	77,2	66,8	Ab	157,4	Aa	46,9	86,2				
Ureia	30,4	70,5	71,0	Ab	147,9	Aa	44,5	84,7				
C ₁ Bovino	33,1	61,5	71,6	Ab	129,1	Ba	47,9	71,9				
C ₂ Caprino	36,2	62,7	67,7	Ab	152,9	Aa	45,4	78,6				
C ₃ Avícola	35,2	60,1	71,0	Ab	152,9	Aa	49,7	73,8				
Média	32,0	b	66,4	A	69,6		148,0		46,9	b	79,0	a
CV (%)	26,2		8,2		13,6							

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de cama avícola. ^{ns} não significativo.

(MAY *et al.*, 2008) encontraram que a espécie *C. flexuosus* incrementou linearmente a altura quando utilizado o intervalo entre cortes de 60 dias, obtendo alturas de 110 a 159 cm, já para *C. citratus* descrevem que as médias de altura estiveram em torno de 76 cm para qualquer intervalo estudado. O número de perfilhos de *C. citratus* e *C. flexuosus* não foi influenciado pelas fontes de adubação. Porém, a espécie *C. flexuosus* perfilhou 53,5% a mais comparada com *C. citratus*. O fato de a testemunha ter apresentado resultados iguais aos tratamentos com adubação em altura e área foliar, explica-se possivelmente, em que a quantidade de nutrientes encontrados no adubo mineral e orgânico foi equivalente e o solo adicionalmente apresentou fertilidade favorável às necessidades das espécies.

3.3.2. Produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial aos 160 e 220 DAP

As fontes nitrogenadas não tiveram efeito sobre nenhuma das variáveis avaliadas (Tabela 3.6). A espécie *C. flexuosus* foi superior na produção de massa fresca, massa seca e produtividade de óleo essencial. No entanto, o teor de óleo essencial foi superior 56,5% em *C. citratus* em relação a *C. flexuosus*, apesar de que a primeira espécie apresentou pequenas lesões foliares ferruginosas marrom-escuras, formando pústulas alongadas, causadas possivelmente por *Puccinia* sp., um fungo que limita a produção comercial de capim-limão (SKARIA *et al.*, 2006). Embora neste estudo a severidade da doença foi baixa, não havendo prejuízo na produção de óleo essencial, Lorenzetti *et al.* (2012) reportou que quanto maior a severidade da doença, menor a quantidade de óleo essencial produzido. A doença não

apresentou-se em *C. flexuosus* a ao longo do experimento, sendo esta uma limitante única para *C. citratus*.

Tabela 3.6- Efeito das fontes de N e as espécies *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) sobre a produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial na folha aos 160 DAP.

Fontes de N (40 kg ha ⁻¹)	Massa fresca (kg ha ⁻¹)		Massa seca (kg ha ⁻¹)		Teor de óleo essencial (g kg ⁻¹)		Produtividade de óleo essencial (kg ha ⁻¹)	
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
Testemunha	1643,5	12463,0	448,5	3379,3	18,8	10,4	8,5	36,0
Ureia	2432,6	8899,6	598,8	2538,2	16,3	12,3	10,6	30,6
C ₁ Bovino	2235,7	6969,3	589,9	2042,1	18,5	10,1	10,9	20,0
C ₂ Caprino	2557,7	9147,3	692,1	2688,7	16,3	9,1	10,9	25,9
C ₃ Avícola	2514,0	8876,8	639,4	2357,6	18,7	8,3	12,0	19,4
Média	2276,7	9271,2	593,7	2601,2	17,7	10,0	10,6	26,4
CV (%)	49,1		50,5		15,1		46,4	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Aos 220 DAP, houve interação significativa ($P < 0.01$) entre as fontes nitrogenadas e as espécies na produção de massa fresca, massa seca e produtividade de óleo essencial. As fontes nitrogenadas não influenciaram a produção de massa fresca e seca de *C. citratus*, enquanto para *C. flexuosus* registraram-se as maiores produções quando não se aplicou N (Tabela 3.7).

Em *C. flexuosus*, houve menor produção de massa seca com a utilização de compostagem de dejetos bovinos, sendo que em relação com as outras fontes, apenas houve diferença respeito da testemunha.

Tabela 3.7- Efeito das fontes de N e as espécies *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) sobre a produção de massa fresca, massa seca, teor e produtividade de óleo essencial na folha aos 220 DAP.

Fontes de N (40 kg ha ⁻¹)	Massa fresca (kg ha ⁻¹)				Massa seca (kg ha ⁻¹)				Teor de óleo essencial (g kg ⁻¹)		Produtividade de óleo essencial (kg ha ⁻¹)			
	Cc		Cf		Cc		Cf		Cc	Cf	Cc		Cf	
Testemunha	1803,0	Ab	21638,0	Aa	444,9	Ab	5903,7	Aa	20,7	8,3	9,2	Ab	49,9	Aa
Ureia	2457,6	Ab	13292,3	Ba	571,4	Ab	3670,4	ABa	21,4	9,7	12,1	Ab	33,4	ABa
C ₁ Bovino	2860,5	Aa	6858,3	Ba	675,7	Aa	2103,1	Ba	19,1	9,4	12,7	Aa	19,2	Ba
C ₂ Caprino	2514,9	Ab	14033,8	ABa	613,9	Ab	4076,5	ABa	22,1	7,3	13,2	Ab	30,2	ABa
C ₃ Avícola	2896,3	Ab	13878,9	Ba	654,4	Ab	3815,5	ABa	23,1	7,0	15,3	Aa	26,0	Ba
Média	2506,4		13940,2		592,1		3913,8		21,3	8,4	12,5		31,7	
CV (%)	44,7				49,0				17,6		47,0			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Essa diminuição de produção pode ser devida ao possível aumento de pH no solo. Gil *et al.* (2008) observaram que depois adubação com compostagem de dejetos bovino (8,9 t ha⁻¹ em base seca) misturado com nitrato de amônio em milho *Zea mays* L., houve um aumento de pH de 7,7 para 9,6. O incremento de pH deve-se à degradação dos ácidos carboxílicos, grupos fenólicos e da mineralização de proteínas, aminoácidos e peptídeos para amônia (CAYUELA; BERNAL; ROIG, 2004). A solubilização da amônia leva à formação de amônio e aumento do pH (GIL *et al.*, 2008).

No início do experimento, o pH do solo era de 5,0 na camada 0-10 cm (Tabela 3.1). Na última colheita as parcelas adubadas com compostagem de dejetos bovino, apresentaram pH de 7,0. O aumento de pH no solo pode ser devido à mineralização do carbono seguida da produção de íons OH⁻ e introdução de cátions como K⁺, Ca²⁺, e Mg²⁺ (HARGREAVES; ADL; WARMAN, 2008). O acúmulo de ânions orgânicos eleva o consumo de prótons em resposta à absorção de amônio, ou prótons produzidos durante o processo de nitrificação (THEODORO *et al.*, 2003).

Os radicais orgânicos livres como as aminas presentes nos dejetos, estão relacionados com a espécie animal e com a alimentação. Para o caso específico dos ruminantes, a forragem rica em fibra que compõe a dieta dos animais (ensilagem de milho e aveia), contém uma alta proporção de lignina, que não é degradável pelas enzimas nem pelos microrganismos durante a digestão, sendo excretadas no dejetos (VÁZQUEZ, 2010). Outra possível causa da diminuição significativa na produção de *C. flexuosus* com o uso da compostagem bovina explica-se em que o pH elevado no solo, ocasiona a retenção de Cu, Fe, Mn e Zn por fixação em óxidos e hidróxidos, formas indisponíveis para as plantas (FANCELLI, 2006).

Com a compostagem de dejetos caprino (também ruminante), não foi observada alteração de pH, nem diminuição na produção vegetal de capim-limão, categorizando apenas esta condição para a compostagem bovina.

O teor de óleo essencial foi afetado apenas pela espécie, sendo que teores superiores foram observados em *C. citratus*. A produtividade de óleo essencial foi superior na testemunha para *C. flexuosus* em comparação com a utilização de compostagem de esterco bovino e camada avícola.

A hipótese de equilíbrio carbono-nutrientes afirma que, em condições de limitada disponibilidade de N, o metabolismo secundário é dirigido para a produção de metabólitos ricos em carbono (AHARONI; GALILI, 2011), devido principalmente a que o carbono destinado para o crescimento ou reprodução é reduzido pela falta de nutrientes

(GERSHENZON, 1984). Esse acúmulo encaminhará o carbono para a síntese de metabólitos secundários, como os terpenos (HAMILTON *et al.*, 2001). Segundo Gershenzon (1984), os níveis de monoterpenos e produção de óleos essenciais, após fertilização com N, P, K podem diminuir ou não aumentar devido a que os terpenóides foliares possivelmente reduzem-se através de catabolismo. Assim, os terpenóides representam uma forma de carbono armazenado que pode ser reutilizada para outras funções (GERSHENZON, 1994; CROTEAU; SOOD, 1985), o que representaria neste experimento o não aumento da produção de compostos secundários decorrente do fornecimento de N.

A concentração dos terpenóides depende da fenologia da planta, da biossíntese do metabólito secundário, do transporte até as estruturas de armazenamento e às taxas de degradação, das mudanças no metabolismo primário, da "diluição" na folha mais madura, ou uma combinação das anteriores (PROVENZA *et al.*, 2003).

A biossíntese dos compostos secundários voláteis (óleo essencial) está associada com a presença de estruturas secretoras e armazenadoras tais como tricomas glandulares, não glandulares e células acumuladoras (SERRATO-VALENTI *et al.*, 1997). O óleo essencial de capim-limão encontra-se armazenado nas células do tecido parenquimatoso da folha (LEWINSOHN *et al.*, 1998), o que explica a importância da produção de biomassa foliar como fator determinante para o aumento da produtividade de óleo essencial (SANGWAN *et al.*, 2001).

Apesar da alta produção de biomassa fresca e seca em *C. flexuosus*, os resultados mostraram que o teor de óleo essencial é inversamente proporcional à produção de biomassa se comparada com *C. citratus*. Neste sentido, Ingestad e Lund (1979) observaram que, quando há falta de N, causam-se danos no crescimento (menor expansão foliar), com mínimos efeitos sobre a biossíntese dos compostos secundários (óleo essencial), mas com aumento da concentração destes como resultado da alta densidade de estruturas que armazenam o conteúdo de monoterpenos nas folhas. Por outro lado, quando há aumento da biomassa, a concentração destes pode diminuir (GERSHENZON, 1994), pelo efeito de ter uma menor densidade das estruturas de armazenamento de óleo essencial, sendo este o possível efeito causado em *C. flexuosus*. O teor de óleo essencial de *C. citratus* aumentou em 16,7% entre os 160 para 220 DAP, o que pode ter relação com a presença de mais folhas jovens e em expansão no momento da colheita (TAJIDIN *et al.*, 2011). O tempo entre cortes foi de 60 dias o que permitiu o desenvolvimento de mais folhas jovens e possivelmente maior capacidade de biossíntese e acúmulo de óleo essencial nos tecidos do parênquima (GANJEWALA;

LUTHRA, 2010; LEWINSOHN *et al.*, 1998; SANGWAN; SANGWAN; LUTHRA, 1993; SINGH; LUTHRA; SANGWAN, 1991).

3.3.3. Eficiência fisiológica do N para a produção de biomassa e de óleo essencial aos 160 e 220 DAP

A eficiência fisiológica do N na produção de biomassa foi maior em *C. flexuosus* (Tabela 3.8). Somente nesta espécie, houve variação entre as fontes nitrogenadas quanto à eficiência do N, sendo que ureia e compostagem de dejetos caprino apresentaram a menor eficiência do N, respeito da testemunha. Não houve interação significativa para a produção de óleo essencial, sendo que as duas espécies responderam igual.

Tabela 3.8- Eficiência fisiológica para a produção de biomassa e de óleo essencial em *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 160 DAP.

Fontes de N 40 (kg ha ⁻¹)	Eficiência fisiológica para a produção de biomassa (g m.s mmol ⁻¹ N)				Eficiência fisiológica para a produção de óleo essencial (g mmol ⁻¹ N)				N (mmol m ⁻²)	
	Cc		Cf		Cc		Cf		Cc	Cf
Testemunha	0,1	Ab	0,3	Aa	8,5	12,4	4,5	Aa	1,7	Ab
Ureia	0,1	Ab	0,2	Ba	7,6	10,1	4,3	Aa	2,8	Ab
C ₁ Bovino	0,2	Ab	0,3	ABa	9,5	9,2	3,8	Aa	2,2	Ab
C ₂ Caprino	0,1	Ab	0,2	Ba	8,5	7,1	4,0	Aa	2,6	Ab
C ₃ Avícola	0,1	Ab	0,3	ABa	8,8	9,3	4,3	Aa	1,8	Ab
Média	0,1		0,3		8,6a	9,6 a	4,1		2,2	
CV (%)			18,2			24,6			18,4	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de cama avícola. ^{ns} não significativo.

Houve interação significativa ($p < 0,01$) entre as fontes de N aplicadas e as duas espécies de capim-limão na quantidade de N na folha (N mmol m⁻²) (Tabela 3.8). O teor de N não foi afetado pela fonte nitrogenada nas duas espécies, porém *C. citratus* foi a espécie que mais concentrou N na folha em comparação a *C. flexuosus*. O resultado da eficiência fisiológica do N na colheita aos 220 DAP foi diferente do obtido na colheita aos 160 DAP, pois não houve interação significativa entre os fatores (Tabela 3.9). A espécie *C. flexuosus* foi a mais eficiente com o uso do N para a produção de biomassa comparada com *C. citratus*. No entanto, esta última espécie foi mais eficiente fisiologicamente com o uso do N para a produção de óleo essencial do que *C. flexuosus*. O teor de N nas folhas colhidas aos 220 DAP para ambas as espécies não foi significativo. Porém, a espécie *C. citratus* apresentou maior teor do nutriente por área foliar.

Tabela 3.9- Eficiência fisiológica para a produção de biomassa e de óleo essencial em *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 220 DAP.

Fontes de N 40 (kg ha ⁻¹)	Eficiência fisiológica para a produção de biomassa (g m.s mmol ⁻¹ N)		Eficiência fisiológica para a produção de óleo essencial (g mmol ⁻¹ N)		N (mmol m ⁻²)	
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
Testemunha	0,1	0,2	7,4	6,8	5,7	2,7
Ureia	0,1	0,2	8,9	7,0	5,6	2,7
C ₁ Bovino	0,1	0,2	7,0	6,0	5,5	3,2
C ₂ Caprino	0,1	0,2	8,1	5,3	5,4	2,8
C ₃ Avícola	0,1	0,2	8,7	4,8	5,3	3,0
Média	0,1	0,2	8,0	6,0	5,5	2,9
CV (%)	21,9		28,4		18,9	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Sifola e Barbieri (2006) encontraram que a eficiência fisiológica do N para a produção de biomassa em *Ocimum basilicum* L., aumentou quando fertilizado com 100 kg N ha⁻¹. Não houve influência das doses de N no acúmulo de matéria seca por mmol de N.

Os resultados das tabelas 3.7 e 3.8 permitem observar que a espécie *C. citratus* apresenta um acúmulo de N superior em comparação com a espécie de maior porte *C. flexuosus*, o que pode estar relacionado com o efeito de diluição da concentração do N com o aumento da massa seca e ao maior teor de óleo essencial. O N em si não influencia o metabolismo secundário, senão a quantidade de N que é incorporada na estrutura vegetal (DUSTIN; COOPER-DRIVER, 1992; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

3.3.4. Implicações do nitrogênio sobre o cultivo de capim-limão

Apesar de não obter diferenças na produção vegetal de *C. citratus* e *C. flexuosus* com o uso das fontes nitrogenadas aos 160 DAP, considerou-se que os resultados desta experimentação permitiram mostrar que a produção de óleo essencial por hectare (OE_{ha}) esteve fortemente relacionada com a quantidade de biomassa produzida (m.s: massa seca) e debilmente relacionada com a quantidade de nitrogênio contida na folha (N_{mmol m⁻²}).

Em *C. citratus* as relações com a produção de biomassa e o conteúdo de N na folha mostram-se nas Figuras 3.5-A ($r^2 = 0,89$, $EO_{ha} = 0,2942 + 0,0173 \times d.w$, $P \leq 0,05$, $n = 20$) e B ($r^2 = 0,05$, $EO_{ha} = 4,6623 + 1,4155 \times N$ mmol m⁻², $P \geq 0,05$, $n = 20$); *C. flexuosus*: C ($r^2 = 0,85$, $EO_{ha} = -1,4304 + 0,0107 \times d.w$, $P \leq 0,05$, $n = 20$) e D ($r^2 = 2,7 \times 10^{-4}$, $EO_{ha} = 25,683 + 0,3083 \times N$ mmol m⁻², $P \geq 0,05$, $n = 20$).

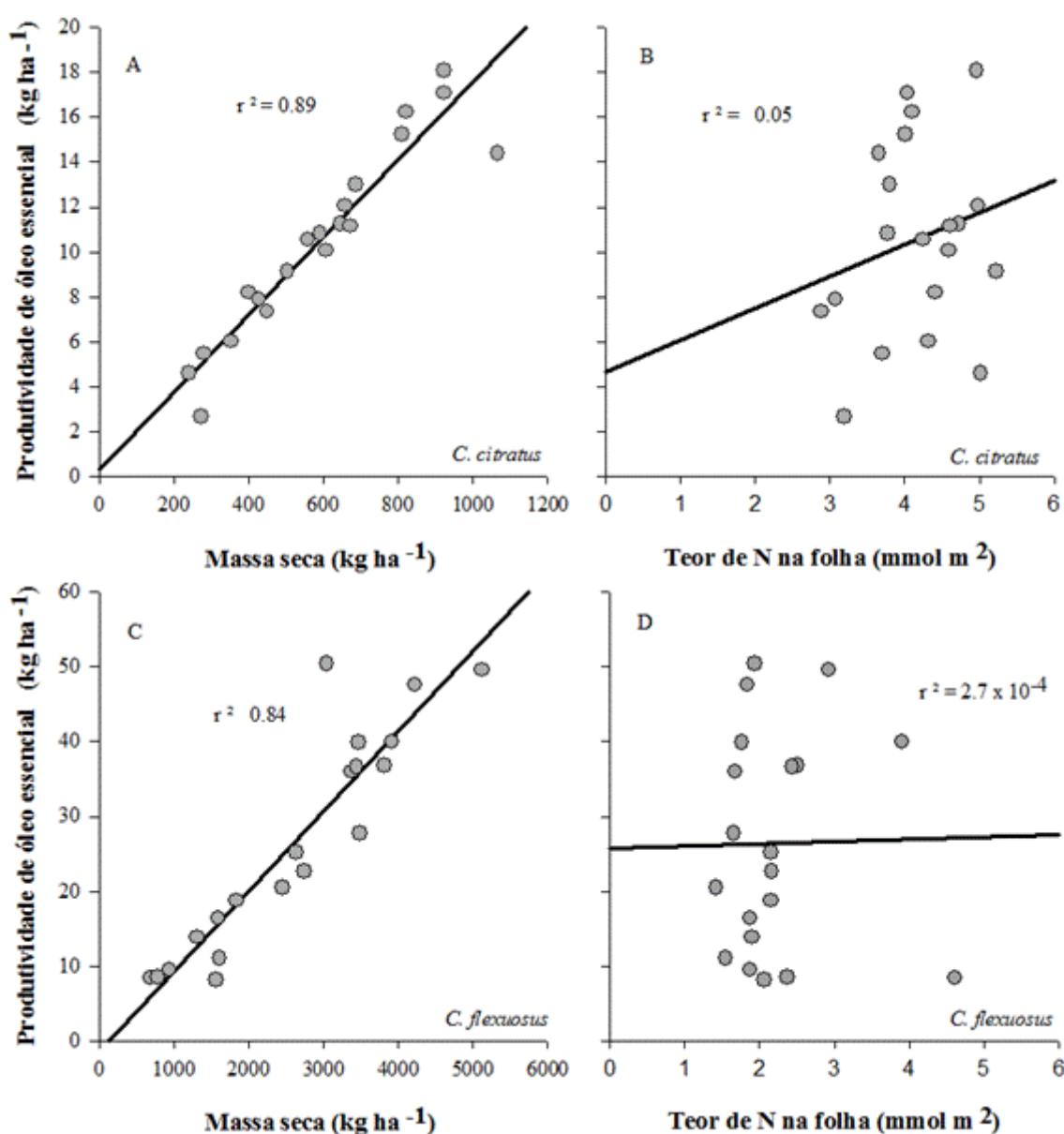


Figura 3.5- A e C. Relação entre biomassa e produção de óleo essencial por hectare em *C. citratus* e *C. flexuosus* respectivamente, submetidas a diferentes fontes nitrogenadas, aos 160 DAP. B e D. Relação entre a quantidade de nitrogênio na folha e produção de óleo essencial.

3.3.5. Composição do óleo essencial de *C. citratus* e *C. flexuosus* aos 160 e 220 DAP

Foram identificados como componentes majoritários para ambas as espécies os monoterpenos linalol, neral, geraniol, geranial, acetato de geranila e compostos minoritários em diferentes percentuais, totalizando aproximadamente 97% da constituição do óleo essencial das espécies (Tabela 3.10). O óleo essencial de *C. citratus* apresentou como constituinte majoritário β -mirceno, ausente em *C. flexuosus*.

Não se observaram diferenças tanto na quantidade quanto na composição do óleo essencial para as duas épocas de colheita em relação às adubações nitrogenadas aplicadas, exceto com o uso de compostagem de camada avícola para *C. flexuosus*, onde se observou diminuição de neral e geranial. Porém, evidencia-se aumento de 2% na quantidade de compostos da colheita aos 160 para 220 DAP.

Tabela 3.10- Percentual dos principais compostos do óleo essencial extraído de folhas frescas de capim-limão aos 160 e 220 DAP.

Colheita aos 160 DAP												
			Testemunha		Ureia		C ₁ Bovino		C ₂ Caprino		C ₃ Avícola	
			Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
Compostos	IR ^a	IR ^b	Cf (%)									
β-Mirceno	990	988	14,1	0,0	15,2	0,0	11,7	0,0	13,7	0,0	14,1	0,0
Linalol	1099	1095	0,8	0,7	0,8	0,5	0,8	0,4	0,8	0,5	0,8	0,7
Neral *	1241	1235	29,6	31,4	29,9	33,6	30,3	34,4	30,1	32,8	30,0	29,3
Geraniol	1254	1249	5,7	3,9	5,1	3,6	4,9	2,5	5,1	4,2	5,0	7,5
Geranial *	1272	1264	39,7	46,4	40,5	49,4	42,2	50,7	40,8	48,7	39,9	43,6
Acetato de Geranila	1384	1381	1,8	3,3	1,4	2,8	1,2	1,3	1,5	1,8	1,6	4,1
Outros	-	-	5,9	10,9	4,9	7,5	5,8	7,7	5,7	9,1	5,8	11,6
Total identificado			97,6	96,6	97,8	97,4	96,9	97,0	97,7	97,1	97,2	97,0
Citral *			69,3	77,8	70,3	83,0	72,6	85,1	70,9	81,5	69,9	73,0
Colheita aos 220 DAP												
β-Mirceno	990	988	11,7	0,0	12,4	0,0	12,6	0,0	14,0	0,0	13,3	0,0
Linalol	1099	1095	0,8	0,5	0,8	0,5	0,8	0,4	0,8	0,5	0,8	0,5
Neral *	1241	1235	30,8	33,2	31,1	33,9	30,7	34,4	30,0	33,1	30,5	29,3
Geraniol	1254	1249	5,6	2,2	4,9	2,3	4,6	1,6	4,4	2,6	5,2	3,3
Geranial *	1272	1264	41,7	48,9	41,5	49,7	42,2	49,3	39,8	48,1	40,8	44,2
Acetato de Geranila	1384	1381	0,6	2,8	0,4	3,3	0,4	3,3	0,4	1,9	0,4	4,6
Outros	-	-	6,2	9,6	6,3	7,7	6,0	8,1	7,3	10,7	6,6	14,6
Total identificado			97,4	97,2	97,4	97,4	97,3	97,1	96,7	97,0	97,6	96,5
Citral *			72,5	82,1	72,6	83,6	73,0	83,6	69,8	81,2	71,3	73,5

Cc: *Cymbopogon citratus*; Cf: *Cymbopogon flexuosus*. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. (*): monoterpenos que compõem o Citral. IR^a: índice de retenção calculado. IR^b: índice de retenção da literatura.

A composição química do óleo essencial das duas espécies de capim-limão avaliadas, foi similar às produzidas em outras regiões do mundo, sendo que de maneira geral, *C. citratus* apresentou como constituintes majoritários do óleo essencial, geranial entre 39,7% a 42,2%, neral 29,6% a 31,1%, geraniol 4,4% a 5,7% e mirceno 11,7% a 15,2%. Esta composição coincide com os valores relatados por (Gendy, Hegazy e El-Sayed (2013), que reportaram para *C. citratus* teores de geranial entre 34,3% a 42,7%, neral 27,5% a 35,6% e mirceno 3,4%

a 10,9% usando o mesmo método de hidrodestilação e análise CG/EM. Por outro lado, Matasyoh *et al* (2011) encontraram uma proporção semelhante na composição do óleo, geranial (39,5%), neral (33,3%), mirceno (11,4%) e geraniol (3,0%).

Por sua vez, *C. flexuosus* apresentou percentuais superiores dos constituintes majoritários, geranial entre 43,6% a 50,7%, neral entre 29,3% a 34,4%, geraniol entre 1,6% a 7,5% e ausência de mirceno. A literatura reporta diferenças com respeito à composição química do óleo, coincidindo com a falta de mirceno. Zheljazkov *et al* (2011) reportaram entre 25,0% a 53,0% de geranial, 20,0% a 45,0% de neral e 1,3% a 7,2% de óxido de cariofileno. Pandey, Rai e Acharya (2003) reportaram 43,8% de geranial, 18,9% de neral, 5,27 de acetato de geranila e 3,6% de geraniol.

C. citratus mostrou em média um conteúdo de 71,2% de citral e *C. flexuosus* 80,4%. Neste sentido, Ganjewala (2009) encontrou que sete cultivares de *C. flexuosus* possuem entre 75% a 85% de citral, sendo este o principal componente do óleo essencial de várias espécies do gênero *Cymbopogon*. Lewinsohn *et al.* (1998) citaram que ambas as espécies produzem entre 75% a 85% de citral no óleo essencial. Na experimentação, a espécie *C. flexuosus* apresentou aproximadamente 10% mais citral do que *C. citratus*. Dita concentração de citral, depende da fenologia da planta, da biossíntese do metabólito secundário, do seu transporte até as estruturas de armazenamento, às taxas de degradação, mudanças no metabolismo primário, da "diluição" na folha mais madura, ou uma combinação de todas (PROVENZA *et al.*, 2003).

O citral está formado pela mistura dos dois isômeros, geranial (*trans*-citral ou citral *a*) e neral (*cis*-citral ou citral *b*) em uma proporção de 3:2 (SCHIEBERLE; GROSCH, 1989; SHAHI *et al.*, 2005). Óleos essenciais com teores superiores a 75% de citral são considerados como de alta qualidade e pureza (SKARIA *et al.*, 2006). A presença de β -Mirceno na essência de *C. citratus*, afeta a qualidade do óleo devido a que é pouco solúvel em etanol, formando soluções opalescentes que limitam seu uso para a indústria perfumista (RODRÍGUEZ; SANTOS, 2008). Por tanto, *C. flexuosus* representa uma alternativa à produção de *C. citratus* com maior teor de citral, alta pureza do óleo essencial devido à ausência de β -Mirceno e alta produção de biomassa sem presença de ferrugem.

3.4. CONCLUSÕES

As fontes nitrogenadas utilizadas nesta experimentação não mostraram diferenças sobre a produção de biomassa, teor e produtividade de óleo essencial em *C. citratus*. Isto, por sua vez, resultou ser distinto para *C. flexuosus*, devido a que o fornecimento de nitrogênio diminuiu a produção de massa fresca e seca, particularmente com o uso de compostagem de dejetos bovinos.

A produção de óleo essencial está fortemente relacionada com a produção de biomassa, mas não pela quantidade de nitrogênio incorporada na folha, o que significa a não dependência de nitrogênio para a produção de óleo essencial e sim para a produção de folhas.

As fontes nitrogenadas não alteram a qualidade nem o teor dos compostos químicos do óleo essencial, no entanto entre colheitas aumentou a quantidade de componentes químicos.

A espécie *C. flexuosus* apresenta alta produção de biomassa, com teor de óleo essencial baixo, porém com alta composição de citral e ausência de ferrugem em relação a *C. citratus*.

3.5. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectrometry**. 4th. ed. USA: [s.n.].
- AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 239–244, 2011.
- AKHILA, A. **Essential Oil-Bearing Grasses: The genus Cymbopogon Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles**. [s.l: s.n.].
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. V.; SAWAZAKI, E. Adubação do sorgo-granífero, forrageiro e vassoura. In: **Boletim técnico: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p. 66–67.
- CAYUELA, M. L.; BERNAL, M. P.; ROIG, A. Composting Olive Mill Waste and Sheep Manure For Orchard Use. **Compost Science & Utilization**, v. 12, n. 2, p. 130–136, mar. 2004.
- CROTEAU, R.; SOOD, V. K. Metabolism of Monoterpenes Evidence for the function of monoterpene catabolism in peppermint (*Mentha piperita*) rhizomes. **Plant Physiol**, v. 77, p. 801–806, 1985.
- DUSTIN, C. D.; COOPER-DRIVER, G. A. Changes in phenolic production in the hay-scented fern (*Dennstaedtia punctilobula*) in relation to resource availability. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 2, p. 99–106, 1992.
- FANCELLI, A. L. Micronutrientes en la fisiología de las plantas. In: VÁZQUEZ, M. (Ed.). . **Micronutrientes en la agricultura. Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo**. Buenos Aires: [s.n.]. p. 207.
- GANJEWALA, D. *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, p. 56–65, 2009.
- GANJEWALA, D.; LUTHRA, R. Essential oil biosynthesis and regulation in the genus *Cymbopogon*. **Natural product communications**, v. 5, n. 1, p. 163–172, 2010.
- GENDY, E. A. G.; HEGAZY, A. .; EL-SAYED, S. M. Effect of biofertilizers and/or urea on growth, yield, essential oil and chemical compositions of *Cymbopogon citratus* Plants. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 9, n. 1, p. 309–320, 2013.
- GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: **Phytochemical Adaptations to Stress**. New York: [s.n.]. p. 273–320.
- GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, p. 1281–1328, 1994.

GIL, M. V. *et al.* Assessing the agronomic and environmental effects of the application of cattle manure compost on soil by multivariate methods. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5763–5772, set. 2008.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B.; FILHO, L. D. Caracterização da produção de Capim-limão no Estado do Paraná, Brasil. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 4, p. 385–390, 2007.

HAMILTON, J. G. *et al.* The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. **Ecology Letters**, v. 4, n. 1, p. 86–95, 22 jan. 2001.

HARGREAVES, J.; ADL, M.; WARMAN, P. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 123, n. 1-3, p. 1–14, jan. 2008.

HAWKESFORD, M. *et al.* Functions of Macronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2011. p. 135–189.

INGESTAD, T.; LUND, A. B. Nitrogen stress in birch seedlings I. growth technique and growth. **Physiologia Plantarum**, v. 45, n. 1, p. 137–148, jan. 1979.

LEWINSOHN, E. *et al.* Histochemical Localization of Citral Accumulation in Lemongrass Leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, v. 81, p. 35–39, 1998.

LORENZETTI, E. *et al.* Controle da ferrugem das folhas do capim-limão [*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf] com produtos naturais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, p. 571–578, 2012.

MALAVOLTA, E.; DE MORAES, M. F. **O nitrogênio na agricultura brasileira**. [s.l.: s.n.].

MATASYOH, J. C. *et al.* Chemical composition of *Cymbopogon citratus* essential oil and its effect on mycotoxigenic *Aspergillus* species. **African Journal of Food Science**, v. 5, n. March, p. 138–142, 2011.

MAY, A. *et al.* Influência do intervalo entre cortes sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 379–382, set. 2008.

NISHIJIMA, C. M. *et al.* Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 736, p. 16–25, ago. 2014.

NIST. **NIST Livro de Química na Web**. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>. Acesso em: 24 jun. 2015.

ORTIZ, R. S.; MARRERO, G. V; NAVARRO, A. L. T. Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (caña santa). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 7, n. 2, p. 89–95, 2002.

PANDEY, A. K.; RAI, M. K.; ACHARYA, D. Chemical Composition and Antimycotic Activity of the Essential Oils of Corn Mint (*Mentha arvensis*) and Lemon Grass (*Cymbopogon flexuosus*) Against Human Pathogenic Fungi. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 6, p. 421–425, jan. 2003.

PARK, S. J.; HONG, C. R.; CHOI, S. J. Citral degradation in micellar structures formed with polyoxyethylene-type surfactants. **Food Chemistry**, v. 170, p. 443–447, mar. 2015.

PAVAN, M. A. **Manual de análise química de solo e controle de qualidade**. [s.l.: s.n.].

PROVENZA, F. D. *et al.* Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. **Small Ruminant Research**, v. 49, n. 3, p. 257–274, 2003.

RODRÍGUEZ, A. P. V; SANTOS, E. J. B. **Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y el Peñón, Santander, Colombia**. [s.l.] Universidad Industrial de Santander, 2008.

SANGWAN, N. S. *et al.* Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p. 3–21, 2001.

SANGWAN, S. R.; SANGWAN, S. N.; LUTHRA, R. Metabolism of acyclic monoterpenes: partial purification and properties of geraniol dehydrogenase from Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) Leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 142, n. 2, p. 129–134, ago. 1993.

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; GRAÇA, L. R. Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas. In: **Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná : diagnóstico e perspectivas**. Curitiba: [s.n.]. p. 272.

SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Potent odorants resulting from the peroxidation of lemon oil. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 189, n. 1, p. 26–31, jul. 1989.

SERRATO-VALENTI, G. *et al.* Structural and Histochemical Investigation of the Glandular Trichomes of (*Salvia aurea* L.) Leaves, and Chemical Analysis of the Essential Oil. **Annals of botany**, v. 79, p. 329–336, 1997.

SHAHI, A. K. *et al.* Determination of essential oil quality index by using energy summation indices in an elite strain of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf [RRL(J)CCA12]. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 2, p. 118–121, mar. 2005.

SIFOLA, M. I.; BARBIERI, G. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 4, p. 408–413, 2006.

SILVA, F. DE A. S. E. **ASSISTAT beta 7.7** Campina Grande, 2015.

SIMEPAR. **Temperatura média, precipitação mensal e umidade relativa Pinhais**. (Arquivo Eletrônico txt). Curitiba: [s.n.].

SINGH, N.; LUTHRA, R.; SANGWAN, R. S. Mobilization of Starch and Essential Oil Biogenesis during Leaf Ontogeny of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.). **Plant Cell Physiol.**, v. 32, n. 6, p. 803–811, 1 set. 1991.

SKARIA, B. P. *et al.* Lemongrass. In: PETER, K. V. (Ed.). **Handbook of Herbs and Spices**. India: Elsevier, 2006. v. 3p. 400–419.

TAJIDIN, N. E. *et al.* Growth Performance and Nutrient Concentration of “Hijau” Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) as Affected by Maturity Stages at Harvest. In: **The role of plant physiology in climate change adaptation and mitigation**. Selangor: [s.n.]. v. 19p. 35–39.

TEDESCO, M. J. *et al.* Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares. In: TEDESCO, M. J. *et al.* (Eds.). **Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10^a. ed. Porto Alegre: [s.n.]. p. 296.

THEODORO, V. C. A. *et al.* Alterações químicas em solo submetido a diferentes formas de manejo do cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 6, p. 1039–1047, dez. 2003.

TWEIB, S. A.; RAHMAN, R. A.; KALIL, M. S. A Literature Review on the Composting. **International Conference on Environment and Industrial Innovation**, v. 12, p. 124–127, 2011.

VÁZQUEZ, M. **Abonos orgánicos**. Disponível em: <[http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/17469/mod_resource/content/1/ABONOS ORGANICOS.pdf](http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/17469/mod_resource/content/1/ABONOS_ORGANICOS.pdf)>.

ZHELJAZKOV, V. D. *et al.* Lemongrass Productivity, Oil Content, and Composition as a Function of Nitrogen, Sulfur, and Harvest Time. **Agronomy Journal**, v. 103, n. 3, p. 805, 2011.

4. TEOR DE MACRO E MICRONUTRIENTES EM FOLHAS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO ADUBADO COM DIFERENTES FONTES NITROGENADAS

RESUMO

O capim-limão é uma planta aromática e medicinal utilizada como matéria prima no preparo de chá e para a extração de óleo essencial rico em citral. A planta desenvolve-se formando touceira com abundante sistema foliar que supõe alta demanda por nutrientes. Este estudo teve por objeto analisar a composição mineral das folhas de duas espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson) após adubação nitrogenada com compostagens de dejetos bovinos, caprinos, avícolas e uréia. Os conteúdos nutricionais não foram afetados pelas fontes nitrogenadas. As espécies mostraram diferenças no teor de macro e micronutrientes e a ordem para *C. citratus* foi C > N > K > Ca > P > Mg > Fe > Zn > Mn > Cu e para *C. flexuosus* C > N > K > Ca > P > Mg > Fe > Mn > Zn > Cu. Na colheita aos 160 DAP, *C. citratus* acumulou maior teor de P, K, Ca, Fe e Zn enquanto *C. flexuosus* acumulou maior teor de Mg e Cu. Já aos 220 DAP, *C. citratus* apresentou os maiores teores de C, P, K, Ca e Fe e *C. flexuosus* maior teor de Mg, Cu e Mn. Os tratamentos não afetaram a produção de biomassa seca e teor de óleo essencial de *C. flexuosus* e de *C. citratus* aos 160 e 220 DAP. O conteúdo de nutrientes foi superior em *C. flexuosus* como consequência da alta produção de biomassa. O teor de citral em *C. flexuosus* foi de 80,0% aos 160 DAP e 80,8% aos 220 DAP, apresentando alta correlação com os teores de Mg e Mn na folha. Enquanto em *C. citratus* foi de 70,6% aos 160 DAP e 71,8% aos 220 DAP.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus*, terpenos, citral, nutriente.

CONTENT OF MACRO AND MICRONUTRIENTS AND ESSENTIAL OIL PRODUCTION IN LEAVES OF LEMONGRASS FERTILIZED WITH DIFFERENT NITROGEN SOURCES

ABSTRACT

Lemongrass is an aromatic and medicinal plant used as raw material for tea preparation and essential oil extraction rich in citral. The plant grows forming clump with abundant leaf system that assumes high demand for nutrients. This study aimed to analyze the leaf mineral composition in two species of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf and *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson) after nitrogen fertilization with composting of bovine, goat and poultry manure and urea. The leaf nutritional contents were not affected by nitrogen sources. The species showed differences in macro and micronutrient content and was in the following order for *C. citratus* C> N> K> Ca> P> Mg> Fe> Zn>Mn> Cu and for *C. flexuosus* C> N> K> Ca> P> Mg> Fe>Mn> Zn> Cu. At harvest at 160 DAP, *C. citratus* accumulated higher content of P, K, Ca, Fe and Zn as *C. flexuosus* accumulated more Mg and Cu content. Already at 220 DAP, *C. citratus* presented the highest C, P, K, Ca and Fe and *C. flexuosus* higher Mg, Cu and Mn content. Treatments did not affected the leaf dry mass and essential yield of *C. flexuosus* and *C. citratus* at 160 and 220 DAP. The nutrient content was higher by *C. flexuosus* as a result of high biomass production. The citral content in *C. flexuosus* was 80.0% at 160 DAP and 80.8% to 220 DAP, with high correlation of Mg and Mn in the leaves. While in *C. citratus* it was 70.6% at 160 DAP and 71.8% at 220 DAP.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus*, terpenes, metabolic route of citral, nutrient

4.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Cymbopogon* (família Gramineae) abrange cerca de 180 espécies, subespécies, variedades e subvariedades que crescem nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Duas das espécies com maior importância econômica são *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, procuradas pelo valor do seu óleo essencial (AKHILA, 2010).

No Brasil, chamadas popularmente como capim-limão, são procuradas para a extração de óleo essencial rico em citral e para a elaboração de chá usado tradicionalmente como espasmolítico, analgésico, anti-inflamatório, antipirético, diurético, tranquilizante e para o tratamento da dor causada por úlceras gástricas (NISHIJIMA *et al.*, 2014). Na Índia e Nepal as plantas são usadas para o tratamento da febre, afeções da pele e para o câncer de cólon (BALAKRISHNAN; PARAMASIVAM; ARULKUMAR, 2014),

O citral (3,7-dimetil-2,6-octadien-1-al), formado pela mistura dos aldeídos monoterpênicos geranial (*trans*-citral) e neral (*cis*-citral), caracteriza-se pelo cheiro forte de "limão" e por ser o composto majoritário do óleo essencial de capim-limão (SCHIEBERLE; GROSCH, 1989; SHAHI *et al.*, 2005). Cerca de 74-76% de citral constitui o óleo essencial de *C. citratus*, enquanto *C. flexuosus* apresenta entre 75-80% (SKARIA *et al.*, 2006). Segundo Darolt (2003), o teor de compostos com propriedades medicinais é mais elevado em plantas produzidas organicamente, devido possivelmente ao desenvolvimento de mecanismos de defesa contra o ataque de pragas e doenças. Outro fator que afeta a quantidade de compostos secundários no óleo essencial está associado com a produção de biomassa (SINGH; SHIVARAJ; SRIDHARA, 1996).

A síntese de citral em capim-limão ocorre nas células parenquimáticas do mesófilo (LEWINSOHN *et al.*, 1998), pelo que a produção de folhas é fator importante para este tipo de gramíneas. Durante a rota metabólica do citral, os nutrientes Mg^{2+} e Mn^{2+} agem como cofatores das prenil transferases, enzimas que catalisam a formação dos terpenóides (KIM; SAWA; SHIBATA, 1996a; SUGA; ENDO, 1991).

A produção de aminoácidos, proteínas, clorofila e coenzimas que permitem a síntese de metabólitos secundários é dependente da disponibilidade de nitrogênio (N) (HAWKESFORD *et al.*, 2011) o que supõe para capim-limão como gramínea, alta demanda por este nutriente (CANTARELLA; RAIJ; SAWAZAKI, 1997).

Neste sentido a análise do acúmulo de nutrientes na folha pode fornecer informações importantes sobre a condição nutricional da cultura e seus efeitos sobre a produção vegetal e de óleo essencial, além de auxiliar no programa de adubação, principalmente quando realizadas as colheitas. O interesse de conhecer a dinâmica do acúmulo de nutrientes fundamenta-se em que é possível determinar as épocas de maior exigência nutricional pelas plantas sendo suprida com adubação, possibilita a correção de eventuais deficiências e avalia o estado nutricional por meio da variação na composição das folhas (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

São poucos os estudos que revelem a composição química da folha decorrente da adubação nitrogenada orgânica e mineral, assim como também a influência do teor de nutrientes absorvidos sobre o teor de citral. O presente trabalho avaliou a composição mineral da folha de *C. citratus* e *C. flexuosus* depois da adubação com diferentes fontes nitrogenadas relacionando o papel dos elementos nutricionais na produção de biomassa, produtividade de óleo essencial e teor de citral.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Implantação do experimento

O experimento foi conduzido entre outubro de 2013 e maio de 2014, no município de Pinhais, Estado de Paraná, Brasil, na estação experimental Cangüiri da Universidade Federal do Paraná. O clima da região é classificado por Köppen como Cfb, com precipitação média de 115,3 mm, temperatura mínima 15 °C, temperatura média 18,8 °C, temperatura máxima 24,7 °C, com presença de três geadas (SIMEPAR, 2014).

O solo do experimento apresentava textura argilosa e fertilidade media a alta (Tabela 4.1). O desenho experimental foi fatorial 2 x 5 em blocos ao acaso com quatro repetições e 40 parcelas de 2 x 4 m. Os tratamentos foram constituídos por duas espécies de capim-limão; *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon flexuosus* e cinco fontes nitrogenadas, compostagem de dejetos bovino, de dejetos caprino e de camada avícola, como fontes orgânicas, ureia (45% N) como fonte sintética e a testemunha sem N, na relação de 40 kg de N ha⁻¹.

Tabela 4.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.

cm	pH	P mg dm ⁻³	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	T	V	MO
	CaCl ₂		cmolc dm ⁻³	%
0-10	5,0	158,4	0	4	9,6	3,4	1,3	14,3	18,3	78	6,8
10-20	5,9	168,0	0	4	9,6	3,3	1,2	14,1	18,1	78	5,7

P= fósforo extraído por Melich-1; SB= soma de bases; T= capacidade de troca catiônica efetiva; V= saturação por bases; MO= matéria orgânica.

As compostagens foram preparadas com insumos próprios da unidade experimental, por processo aeróbico de decomposição, com revolvimentos manuais durante um período de 45 dias, até a obtenção de um material homogêneo, escuro, sem cheiro e com as características químicas finais apresentadas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2- Características químicas das compostagens utilizadas no experimento. Pinhais, PR, 2013.

Compostagem	N	C	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	(g kg ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)
C ₁ Bovino	7,2	100,9	0,9	1,2	9,0	2,4	4111	174	8	34
C ₂ Caprino	7,0	93,1	1,6	2,2	9,4	2,2	4195	167	9	48
C ₃ Avícola	12,6	147,5	8,4	5,4	23,8	6,3	4997	359	26	186

C₁ Bovino: Compostagem de dejetos bovino; C₂ Caprino: Compostagem de dejetos caprino; C₃ Avícola: Compostagem de camada avícola.

As fontes orgânicas de N foram incorporadas no solo, na proporção de 8.329,2 kg ha⁻¹ de compostagem de esterco bovino, 8928,6 kg ha⁻¹ de compostagem de esterco caprino e 4759,5 kg ha⁻¹ de compostagem de camada avícola. A fonte sintética de N (ureia) foi aplicada em dois momentos da experimentação, a primeira incorporando 45% (18 kg ha⁻¹) à cova antes da semeadura e 55% a lanço (22 kg ha⁻¹) depois da primeira colheita, 160 dias após plantio (DAP). Em outubro de 2013 foram plantadas duas mudas por cova a 4 cm de profundidade aproximadamente.

4.2.2. Preparação da amostra para análise de composição elementar

Passados 160 e 220 DAP, foram colhidas as folhas de cada parcela útil, à altura aproximada de 5 cm acima do meristema apical. O material vegetal coletado foi pesado para obter massa fresca total. Posteriormente, foram separadas 50 g de folhas frescas para secar a 65 °C até peso constante. Uma vez secas, foram pesadas novamente para obter a massa seca.

As folhas secas foram moídas em moinho Willye Super Modelo STAR FT-80 até homogeneidade e granulometria de 0,2 mm (Figura 4.1). A massa fresca e seca foi calculada em g planta⁻¹.

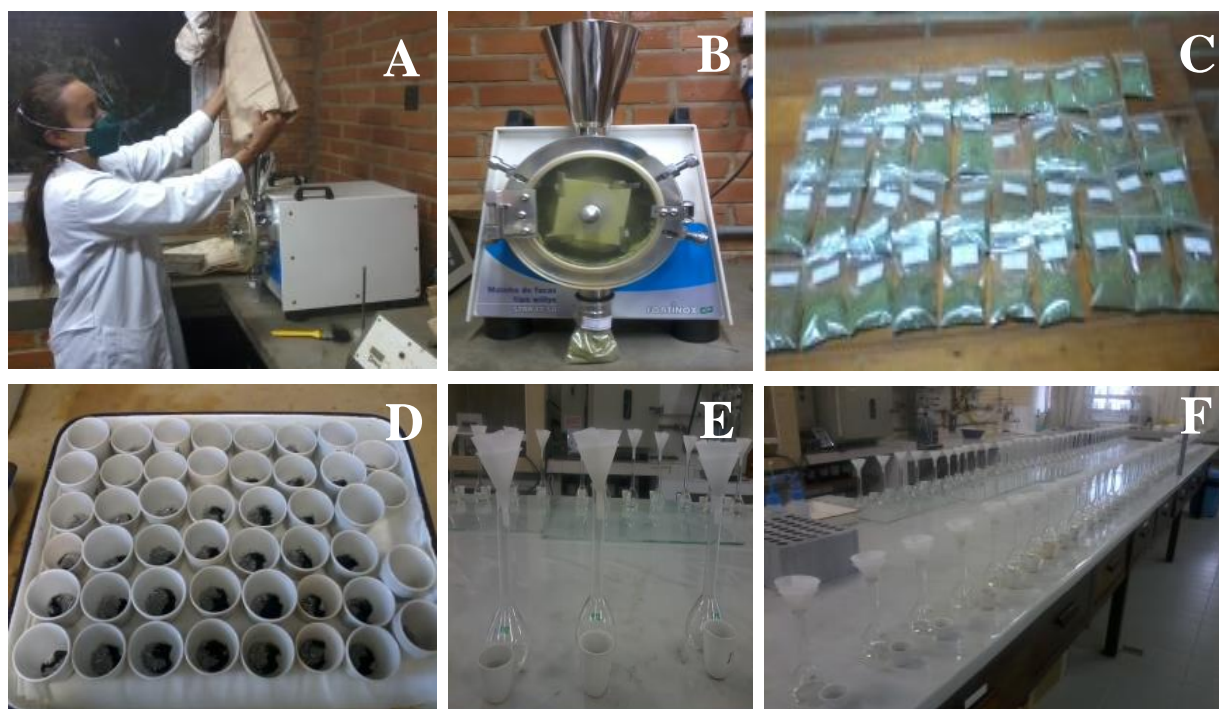


Figura 4.1- Análise química de nutrientes na folha de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf): **A.** Moagem das folhas secas. **B.** Moinho Willye Super Modelo STAR FT-80. **C.** Amostras homogêneas com granulometria 0,2 mm. **D.** Cadinhos de porcelana com 1 g de amostra incinerada em mufla a 500 °C. **E.** Digestão ácida com HCl 3 mol L⁻¹. **F.** Filtragem da diluição para análise em plasma indutivamente acoplado (Varian 720-ES).

Para a análise química dos teores totais de carbono (C) e nitrogênio (N) foram pesadas e empacotadas em cápsula de estanho, aproximadamente 20 mg de amostra foliar para posterior combustão seca em analisador elementar modelo Vario EL III® (método de Dumas ou análise elementar).

Para a determinação dos teores totais dos nutrientes fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) foram pesadas 1 g de amostra em cadinhos de porcelana para incineração em mufla a 500 ° C e subsequente digestão ácida com HCl 3 mol L⁻¹ (MARTINS; REISSMANN, 2007).

Os teores foram determinados por espectrofotometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Varian 720-ES). As análises foram realizadas nos Laboratórios de Biogeoquímica e de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola da UFPR. Uma vez obtidos os teores de cada elemento nutricional, calculou-se o conteúdo considerando a biomassa seca produzida.

4.2.3. Extração de óleo essencial, identificação e quantificação dos seus constituintes químicos

A extração de óleo essencial realizou-se no Laboratório de Ecofisiologia da UFPR a partir de 100 g frescas de folhas colocadas em balão volumétrico de 2 L, acrescentando um volume de 1 L de água destilada para posterior hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger. Transcorridas 2 horas de extração, o óleo essencial resultante foi coletado com micropipeta e posteriormente armazenado em frascos Eppendorf de 2 ml a -20 °C até análise de composição química.

A caracterização química do óleo essencial de *C. citratus* e *C. flexuosus* foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), em cromatógrafo Agilent 6890 (Palo Alto, CA) acoplado a detector seletivo de massas Agilent 5973N.

Injetou-se 1,0 µL da solução de óleo essencial diluído em diclorometano na proporção de 1 %, sendo o injetor mantido a 250 °C. Os constituintes do óleo foram separados em coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) utilizando hélio como gás carreador (1,0 mL min⁻¹). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240 °C a uma taxa de 3 °C min⁻¹. O detector de massas foi operado no modo ionização eletrônica (70 eV), a uma taxa de 3,15 varreduras min⁻¹ e faixa de massas de 40 a

450 u. A linha de transferência foi mantida a 260 °C, a fonte de íons a 230 °C e o analisador (quadrupolo) a 150 °C.

A quantificação, do óleo foi realizada em cromatógrafo Agilent 7890A equipado com detector de ionização por chama (DIC), operado a 280 °C. Foram empregadas as mesmas coluna e condições analíticas descritas acima, exceto pelo gás carreador usado, que foi o hidrogênio, a uma vazão de 1,5 mL min⁻¹. O percentual da composição química do óleo essencial foi obtido pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (área %). Finalmente a identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com aqueles das espectrotescas WILEY 275 (NIST, 2013) bem como pela comparação dos seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C₇-C₂₆) comparados com dados da literatura (ADAMS, 2009).

4.2.4. Análises estatísticas

Os dados da composição mineral das folhais foram submetidos à análise de variância e comparadas as médias pelo teste de Tukey a 5 % de significância. Para as análises estatísticas utilizou-se o programa Assistat versão 7.7 beta (SILVA, 2015).

Correlações diretas entre teor de nutrientes e teor de citral foram realizadas para estimar a influencia de cada nutriente sobre a produção de citral e a análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para visualizar o agrupamento das variáveis teor de óleo essencial, produção de massa seca e teor de micro e macro nutrientes da folha de cada espécie de capim-limão.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Produtividade de biomassa¹

Na colheita aos 160 DAP, não houve interação entre os fatores em relação à produtividade de massa fresca e massa seca, porém apresentou-se diferença significativa entre as espécies, sendo *C. flexuosus* superior comparada com *C. citratus* ($p \leq 0,05$). A diferença de aproximadamente 75 % para massa fresca e 77 % para massa seca, revela que *C. flexuosus* tem alto potencial para a produção de biomassa.

Já para a colheita aos 220 DAP, houve interação significativa entre os fatores. Todas as fontes de N foram iguais para *C. citratus*, entretanto para *C. flexuosus* a testemunha e compostagem de dejetos caprinos foram as melhores adubações na obtenção de massa fresca com 1.081,8 e 701,6 (g planta⁻¹) respectivamente. A espécie *C. flexuosus* quando adubada com compostagem de dejetos bovinos atingiu a menor produção de biomassa. Entre colheitas, a produção de biomassa aumentou para ambas as espécies, porém se manteve a diferença entre estas, sendo *C. flexuosus* superior 82% respeito a *C. citratus* em produtividade de massa fresca e 85% em massa seca ($p \leq 0,05$). Em *Cymbopogon martinii* cultivado com 15 t ha⁻¹ ano de esterco animal, a produção de biomassa incrementou 10,7% e a produtividade de óleo essencial 10,3% em relação ao tratamento sem adição de dejetos (RAO, 2001).

As espécies *C. citratus* e *C. flexuosus*, são diferentes morfológicamente, sendo a primeira caracterizada por atingir uma altura máxima de 1 m com abundante sistema foliar e curto rizoma, enquanto a segunda espécie pode alcançar mais de 2 m de altura com formação de grandes touceiras (SKARIA *et al.*, 2006). A diferença em tamanho e porte das plantas são o causa da diferença significativa para a produção de biomassa.

4.3.2. Composição mineral da folia aos 160 e 220 DAP

4.3.2.1. Macronutrientes

Aos 160 DAP não houve interação significativa dos tratamentos no teor e conteúdo de C e N (Tabela 4.3). As fontes nitrogenadas não tiveram efeito sobre o teor e acúmulo de macronutrientes na folha de capim-limão.

¹ Ver resultados tabulados no Capítulo 3.

Tabela 4.3. Teor e conteúdo de C, N e relação C/N nas folhas de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 160 e 220 DAP.

Cynodopogon flexuosus (Cf) aos 180 e 220 DAP.														
Fontes de N 40 kg ha ⁻¹	Macronutrientes													
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
	C		N		C		N		C		N		C/N	
	Teor				Conteúdo									
%			 kg ha ⁻¹									
160 DAP														
Testemunha	41,9	44,0	2,4	2,1	18,8	149,0	1,1	7,1	17,7	21,2				
Ureia	42,4	43,3	2,4	2,2	25,4	107,6	1,5	5,6	17,8	19,5				
C ₁ Bovino	42,5	43,1	2,2	2,2	36,5	89,5	1,9	4,4	19,5	19,9				
C ₂ Caprino	38,8	42,2	2,2	2,2	27,9	113,6	1,6	6,0	17,7	19,0				
C ₃ Avícola	42,0	41,8	2,4	2,2	26,9	98,5	1,5	5,0	17,5	19,1				
Média	41,5	a 42,9	a 2,3	a 2,2	a 27,1	b 111,6	a 1,5	b 5,6	a 18,0	19,7				
CV (%)	7,7		9,9		50,3		48,2							
220 DAP														
Testemunha	42,4	42,9	2,6	2,3	18,9	Ab 253,5	Aa 1,2	Ab 13,6	Aa 16,1	19,0				
Ureia	37,7	43,3	2,4	2,3	22,2	Ab 159,2	ABa 1,4	Ab 8,5	ABa 15,8	18,8				
C ₁ Bovino	43,3	42,9	2,6	2,2	29,3	Aa 90,4	Ba 1,7	Aa 4,9	Ba 16,9	19,1				
C ₂ Caprino	41,8	42,4	2,4	2,2	25,6	Ab 172,4	ABa 1,5	Ab 8,9	ABa 17,1	19,5				
C ₃ Avícola	42,9	42,3	2,6	2,2	28,1	Ab 161,2	ABa 1,7	Ab 8,2	Ba 16,4	19,4				
Média	41,6	a 42,8	b 2,5	a 2,2	a 28,1	167,3	1,5	8,8	16,5	19,2				
CV (%)	7,6		10,3		49,0		50,7							

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Aos 220 DAP houve diminuição no conteúdo de C e N para a espécie *C. flexuosus* com o uso de compostagem de esterco bovino em relação à testemunha (Tabela 4.3).

O maior conteúdo de C e N foi observado em *C. flexuosus* em decorrência de maior produção de biomassa com exceção ao tratamento com compostagem de dejetos bovinos, cujas médias foram inferiores às demais fontes nitrogenadas.

Poucas pesquisas reportam o conteúdo de macro e micronutrientes em capim-limão. No entanto, os resultados obtidos neste experimento (Tabelas 4.3 a 4.5) permitiram observar que os teores de macro e micronutrientes foram diferentes aos reportados por Joy (2003), que obteve N 0,74%; P 0,07% e, K 2,12%; Ca 0,36%; Mg 0,15%; Fe 126,73 ppm; Mn 155,82 ppm; Zn 35,51 ppm e Cu 56,64 ppm quando analisadas folhas de capim-limão após extração de óleo essencial para serem usadas como substrato (mulch) no plantio de *Curculigo orchoides* na Índia. Tajidin *et al.* (2011) analisaram a composição nutricional da folha e perfilhos em *C. citratus*, após fertilização com 300 kg N ha⁻¹, 100 kg P₂O₅ ha⁻¹ e 50 kg K₂O ha⁻¹ aplicados aos 1,5, 2,5 e 3,5 meses DAP, encontrando valores máximos aos 30 dias após a primeira colheita, com N 3,71%; P 0,46% K 7,62%; Ca 1,09 % e Mg 0,70%; valores superiores aos encontrados nesta experimentação.

Tabela 4.4- Teor e conteúdo de P, K, Mg e Ca nas folhas de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 160 e 220 DAP.

Fontes de N 40 kg ha ⁻¹	Macronutrientes																
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	
	P		K		Mg		Ca		P		K		Mg		Ca		
	160 DAP																
	Teor								Conteúdo								
	g kg ⁻¹								kg ha ⁻¹								
Testemunha	2,6	1,7	16,6	13,5	1,3	1,5	5,9	2,3	1,1	5,8	7,6	46,0	0,6	5,1	2,6	7,7	
Ureia	2,8	1,9	18,3	14,4	1,4	1,6	5,4	2,9	1,7	5,0	11,1	36,7	0,8	4,2	3,2	7,5	
C ₁ Bovino	2,7	1,9	16,8	13,8	1,4	1,8	6,3	4,0	1,6	4,1	9,9	27,8	0,8	3,5	3,7	8,0	
C ₂ Caprino	2,7	1,9	17,3	13,3	1,4	1,7	5,4	3,4	2,0	5,1	12,0	35,6	0,9	4,5	3,8	9,3	
C ₃ Avícola	2,7	1,9	17,4	15,0	1,3	1,6	5,7	2,8	1,8	4,3	11,1	35,4	0,9	3,6	3,6	6,5	
Média	2,7	a 1,9 b	17,3	a 14,0 b	1,4 b	1,6 a	5,7	a 3,1 b	1,6 b	4,9	a 10,3 b	36,3	a 0,8 b	4,2	a 3,4 b	7,8	a
CV (%)	8,3		4,5		5,7		11,8		51,1		48,2		53,0		49,8		
220 DAP																	
Testemunha	2,5	1,8	19,5	14,5	1,5	1,7	5,5	2,4	1,0	10,4	8,8	86,5	0,7	9,7	2,4	14,2	
Ureia	2,3	1,8	19,7	15,6	1,4	1,8	5,1	2,8	1,3	6,6	11,3	58,5	0,8	6,7	2,9	10,3	
C ₁ Bovino	2,2	1,6	18,5	14,6	1,4	1,8	5,4	2,9	1,5	3,6	12,9	31,2	1,0	3,7	3,7	6,1	
C ₂ Caprino	2,3	1,7	20,1	14,6	1,5	1,8	4,9	2,4	1,5	6,9	12,4	60,4	0,9	7,2	3,1	10,1	
C ₃ Avícola	2,3	1,7	19,3	14,4	1,4	1,7	5,0	2,5	1,5	6,7	12,6	55,7	0,9	6,6	3,3	10,0	
Média	2,3	a 1,7 b	19,4	a 14,8 b	1,4 b	1,7 a	5,2	a 2,6 b	1,4 b	6,9	a 11,6 b	58,5	a 0,8 b	6,8	a 3,1 b	10,1	a
CV (%)	11,0		6,7		6,3		13,3		49,8		50,3		51,5		50,4		

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Nambiar e Matela (2012) na Índia, reportam que amostras secas para a elaboração de chá apresentavam constituintes nutricionais (em mg/100g) entre 89,3 P, 59,5 K, 39 Ca e 5,70 Mg. No Brasil, Almeida *et al* (2002) encontraram que amostras de chá apresentavam teores (mg/100g) de K 212, Ca 278, Mg 89,6. As variações dos dados reportados em diferentes partes do mundo podem estar atribuídas às diferenças na localização geográfica, clima, insumos agrícolas subministrados na cultura e tipo de análises das amostras (ENDALAMAW; CHANDRAVANSI, 2015).

A relação C/N foi maior em *C. flexuosus*, o que representa nesta última espécie, estruturas foliares mais lignificadas e resistentes ao ataque de pragas e doenças. Ao longo desta experimentação foi constatado visualmente um estado sadio das folhas de *C. flexuosus*, enquanto para *C. citratus* observou-se presença de ferrugem causada possivelmente por *Puccinia* sp., que se reporta como o agente causal de grandes perdas económicas em plantas de capim-limão (LORENZETTI *et al.*, 2012). Este fato pode ser decorrente de estruturas foliares mais frágeis e fáceis de atacar, devido à baixa relação C/N, resultando em folhas menos lignificadas.

Os teores de P, K, Mg e Ca não foram afetados pelos tratamentos (Tabelas 4.4). A espécie que apresentou maior teor de P, K e Ca na folha foi *C. citratus*, enquanto *C. flexuosus* apresentou maior teor de Mg, nas colheitas aos 160 e 220 DAP. Observou-se que em *C. citratus* o teor de K aumentou 11% da primeira para a segunda colheita. Tajidin *et al* (2011) encontraram que 30 dias após a primeira colheita houve maior acúmulo de K (7,62%) na folha e na bainha, sendo este inferior ao obtido neste experimento.

O conteúdo de P, K, Mg e Ca em *C. flexuosus* foi quase o dobro do conteúdo registrado em *C. citratus*, o que representa alta demanda por nutrientes, derivado a uma maior produção de biomassa. Qualquer deficiência de N, P e K ocasiona diminuição de massa seca durante o crescimento vegetativo da planta (CHAPMAN; KEAY, 1971).

4.3.2.2. Micronutrientes

Não houve interação entre os tratamentos sobre o teor e conteúdo de micronutrientes no tecido foliar aos 160 e 220 DAP (Tabelas 4.5). As espécies de capim-limão foram diferentes tanto no teor quanto no conteúdo, sendo *C. citratus* a espécie com maior teor de Fe e Zn ($P \leq 0,05$) e *C. flexuosus* de Cu aos 160 DAP.

Tabela 4.5- Teor e conteúdo de Cu, Fe, Mn e Zn nas folhas de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 160 e 220 DAP.

Fontes de N 40 kg ha ⁻¹	Micronutrientes															
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	
	Cu		Fe		Mn		Zn		Cu		Fe		Mn		Zn	
	160 DAP															
	Teor g kg ⁻¹								Conteúdo kg ha ⁻¹							
Testemunha	3,6	4,5	163,0	95,3	20,1	34,1	23,9	17,9	1,6	15,0	70,5	317,2	8,7	109,9	13,6	61,9
Ureia	4,0	4,4	149,4	103,9	25,3	29,3	24,3	17,9	2,2	11,7	90,0	228,6	13,7	52,9	14,5	46,1
C ₁ Bovino	3,6	5,1	155,0	121,2	22,3	23,8	27,1	21,0	2,0	10,6	95,0	240,5	12,0	42,3	13,7	46,2
C ₂ Caprino	3,8	4,2	159,0	124,1	26,5	24,5	28,5	21,0	2,7	11,5	110,2	337,5	16,0	68,0	21,8	50,3
C ₃ Avícola	3,7	4,6	200,8	92,7	33,6	23,5	45,7	20,9	2,3	10,6	126,5	232,9	20,3	59,6	27,2	54,8
Média	3,7	b 4,6	a 165,4	a 107,5	b 25,5	a 27,0	a 29,9	a 20	b 2,2	b 11,9	a 98,4	b 271,4	a 14,1	b 66,7	a 18,2	b 51,9
CV (%)	10,5		23,3		47,2		55,0		55,0		50,2		63,7		69,5	
220 DAP																
Testemunha	3,5	4,1	131,6	110,8	15,3	37,1	23,7	18,3	1,3	23,3	59,7	710,2	7,1	192,6	10,6	102,0
Ureia	4,1	4,4	180,9	95,0	20,4	27,7	20,3	20,0	2,3	16,1	99,8	370,0	11,1	96,5	11,6	70,8
C ₁ Bovino	3,9	4,5	118,6	115,1	17,3	25,0	25,0	13,9	2,7	10,2	78,0	284,2	11,7	53,76	15,4	29,4
C ₂ Caprino	3,8	4,1	113,3	110,4	20,3	30,2	25,6	27,9	2,3	16,7	70,4	499,0	12,4	134,5	15,2	100,0
C ₃ Avícola	3,4	4,2	98,0	78,5	14,5	32,7	27,8	20,9	2,3	16,3	65,4	302,4	9,7	126,9	17,9	86,2
Média	3,7	b 4,2	a 128,5	a 102,0	b 17,6	b 30,6	a 24,5	a 20,2	a 2,2	b 16,5	a 74,7	b 433,2	a 10,3	b 120,9	a 14,2	b 77,7
CV (%)	15,3		38,9		36,8		44,9		50,07		77,97		73,58		62,4	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $P < 0.05$. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

Aos 220 DAP, *C. flexuosus* apresentou teores superiores de Mn e Cu. No entanto, o conteúdo dos elementos avaliados foi sempre superior em *C. flexuosus*. Joy (2003) reportou um acúmulo de 0,19% S, 126,73 mg kg⁻¹ Fe, 155,82 mg kg⁻¹ Mn, 35,51 mg kg⁻¹ Zn e 56,64 mg kg⁻¹ Cu. Nambiar e Matela (2012) reportaram em mg/100g, Fe 0,024, Mn 0,952, Zn 121, Na 54,8, enquanto Almeida *et al* (2002), reportou também em mg/100g Na 32, Fe 1,032, Al 3,17, Mn 0,040 e Zn 0,045. Nesta pesquisa, o nutriente B não foi detectado pela análise.

As diferenças de teor e conteúdo dos elementos analisados podem ser devidas a vários fatores incluindo a concentração do nutriente no solo, o pH, a capacidade de troca catiônica, os conteúdos de matéria orgânica, características botânicas próprias de cada espécie, idade e época de corte (KITATA; CHANDRAVANSI, 2012).

O fato de não ter sido observado efeito das fontes nitrogenadas sobre a produção de biomassa e acúmulo de nutrientes, pode estar relacionado com a boa fertilidade do solo onde foi implantado o experimento, pois conforme análise da amostra do solo (Tabela 4.1), a saturação por bases foi maior a 60% e os teores de matéria orgânica provavelmente foram suficientes para atender as necessidades nutricionais das espécies. Cunha *et al* (2012) não obtiveram diferenças nos teores de nutrientes com exceção de N, decorrentes das fontes e doses de composto orgânico utilizado em *C. citratus* aplicado em época seca e úmida no Brasil.

A superioridade de *C. citratus* no acúmulo de nutrientes na folha poderia ter relação com a sua adaptação às condições ambientais e ao solo do local do experimento, devido à maior eficiência na obtenção de nutrientes. A maior produção de biomassa de *C. flexuosus* pode ter levado à diluição de nutrientes, o que não ocorreu em *C. citratus* que tem menor produção de biomassa. Os teores nutricionais para *C. citratus* de maneira decrescente foi: C>N>K>Ca>P>Mg>Fe>Zn>Mn>Cu. Por sua vez, *C. flexuosus* apresentou a mesma distribuição, com o diferencial que a concentração de Mn foi um pouco mais elevada do que Zn (Mn>Zn).

4.3.2.3. Biossíntese de citral em capim-limão e participação dos nutrientes na rota metabólica

Nos dados apresentados no Capítulo 3, mostrou-se que a espécie *C. flexuosus* apresentou em média 80% de teor de citral, enquanto *C. citratus* atingiu 70%. O citral, constituinte majoritário do óleo essencial de capim-limão é formado pela mistura dos monoterpenóides geranial e neral (SCHIEBERLE; GROSCH, 1989; SHAHI *et al.*, 2005),

cuja rota metabólica apresenta influência de elementos nutricionais que participam como ativadores de enzimas envolvidas na biossíntese.

A espécie *C. flexuosus* apresentou maiores teores de Mg, Mn e Cu (Mn só na segunda colheita) na folha em relação a *C. citratus*, o que pode ter influenciado no maior teor de citral.

A rota metabólica da formação de terpenos, começa a partir dos precursores universais de 5 carbonos (C) denominados isoprenos, isopentenil difosfato (IPP) e dimetil alil difosfato (DMAPP), que são derivados de duas rotas biossintéticas alternativas localizadas em organelas celulares diferentes (NAGEGOWDA, 2010). A união de isoprenos forma diferentes classes de terpenos, entre estes os monoterpenos (C_{10}). As enzimas que catalisam a união entre isoprenos e que promovem o alongamento da cadeia terpênica são as Prenil transferases, as quais são ativadas por Mg^{2+} e Mn^{2+} como cofatores (KIM; SAWA; SHIBATA, 1996b; SUGA; ENDO, 1991). A condensação de IPP e DMAPP catalisada pela enzima geranil difosfato sintase (GDS) leva à produção de geranil difosfato GPP (C_{10}), o precursor universal dos monoterpenóides. A GDS prefere Mg^{2+} como cofator (THOLL; CROTEAU; GERSHENZON, 2001).

A correlação entre o teor de citral e o teor de Mg na folha, foi positiva tanto para *C. citratus* ($r = 0,88$), quanto para *C. flexuosus* ($r = 0,81$) na colheita aos 160 DAP (Tabela 4.6). Na primeira colheita houve correlação negativa com o teor de N para *C. citratus* ($r = -0,82$). Para a segunda colheita houve correlação positiva com Fe em *C. flexuosus* ($r = 0,80$). Os resultados positivos nas correlações refletem a importância dos elementos Mg e Fe como possíveis cofatores da rota metabólica na produção de citral, enquanto N parece não influenciar na biossíntese deste metabólito secundário.

Tabela 4.6- Equações de regressão e coeficientes de correlação (r) entre o teor de citral (Y) e os teores de nutrientes (X) encontrados em folhas de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 160 e 220 DAP.

Variáveis	160 DAP					220 DAP			
	Cc		Cf		r	Cc		Cf	
	Equação	r	Equação	r		Equação	r	Equação	r
Y x X (C)	$y = 70,152 + 0,011x$	0,01	$y = -7,5279 + 2,0433x$	0,38	$y = 75,232 - 0,0819x$	-0,14	$y = -237,09 + 7,4352x$	0,77	
Y x X (N)	$y = 92,482 - 9,4859x$	-0,82	$y = 30,048 + 23,012x$	0,29	$y = 65,507 + 2,4968x$	0,21	$y = -28,894 + 49,163x$	0,67	
Y x X (P)	$y = 51,43 + 7,0613x$	0,28	$y = 29,942 + 27,094x$	0,54	$y = 75,682 - 1,6665x$	-0,13	$y = 56,637 + 14,043x$	0,20	
Y x X (K)	$y = 73,635 - 0,1751x$	-0,09	$y = 127,45 - 3,3852x$	-0,50	$y = 99,983 - 1,451x$	-0,68	$y = 14,721 + 4,477x$	0,54	
Y x X (Mg)	$y = 36,339 + 24,977x$	0,88	$y = 11,718 + 41,88x$	0,81	$y = 99,983 - 1,451x$	-0,10	$y = 36,651 + 25,485x$	0,32	
Y x X (Ca)	$y = 62,638 + 1,392x$	0,44	$y = 63,862 + 5,2645x$	0,70	$y = 52,787 + 3,6789x$	0,71	$y = 58,72 + 8,5287x$	0,45	
Y x X (Cu)	$y = 69,89 + 0,192x$	0,02	$y = 56,15 + 5,2563x$	0,35	$y = 66,626 + 1,3877x$	0,31	$y = 40,57 + 9,4819x$	0,46	
Y x X (Fe)	$y = 74,594 - 0,0241x$	-0,39	$y = 52,739 + 0,2543x$	0,77	$y = 69,32 + 0,0195x$	0,48	$y = 58,288 + 0,2207x$	0,80	
Y x X (Mn)	$y = 71,747 - 0,0446x$	-0,18	$y = 81,527 - 0,054x$	-0,05	$y = 73,918 - 0,1195x$	-0,25	$y = 91,745 - 0,3585x$	-0,40	
Y x X (Zn)	$y = -0,0238x + 71,318$	-0,17	$y = 82,562 - 0,1265x$	-0,04	$y = 77,665 - 0,2387x$	-0,51	$y = 85,295 - 0,2229x$	-0,27	

Iijima *et al* (2006) analisaram a atividade enzimática para a formação de citral em manjerição (*Ocimum basilicum*) cultivar Sweet Dani, encontrando que a enzima geraniol desidrogenase (GEDH), oxida geraniol para produzir geranial. Esta enzima pertence às álcool cinamil desidrogenases (CADs) que evoluíram das desidrogenases/reductases (MDR), sendo conformadas por dois unidades cada uma com dois átomos de Zn como cofator (ARSENIJEVIĆ *et al.*, 2013). Em folhas de *C. flexuosus* a conversão de geraniol em geranial (*trans*-citral) e de nerol em neral (*cis*-citral) consiste na perda de um hidrogênio, sendo *trans*-citral convertido em *cis*-citral e vice versa pela mesma rota de biossíntese (AKHILA, 1985).

Os resultados apresentados nesta pesquisa revelaram maior teor de Zn em *C. citratus* em ambas as colheitas, porém não apresentou os maiores conteúdos de citral quando comparado com *C. flexuosus*. Misra e Srivastava (1991) encontraram que as adições de Zn para o crescimento de *C. flexuosus* aumentaram a concentração de citral no óleo essencial.

As CADs tem como cofatores NADP^+ e NAD^+ . No processo inverso, o cofator utilizado para reduzir neral para nerol é o NADPH assim como também do geranial para o geraniol. A enzima responsável pela formação de geraniol e nerol é a GDS, sendo que a desidrogenase dependente de NADP^+ pode usar geraniol como substrato (ARSENIJEVIĆ *et al.*, 2013).

A análise de componentes principais (ACP) permitiu observar uma separação espacial entre espécies, classificando-as entre a espécie que mais acumulou nutriente e a que possui maior teor de óleo essencial na folia (Figura 4.2 A-B).

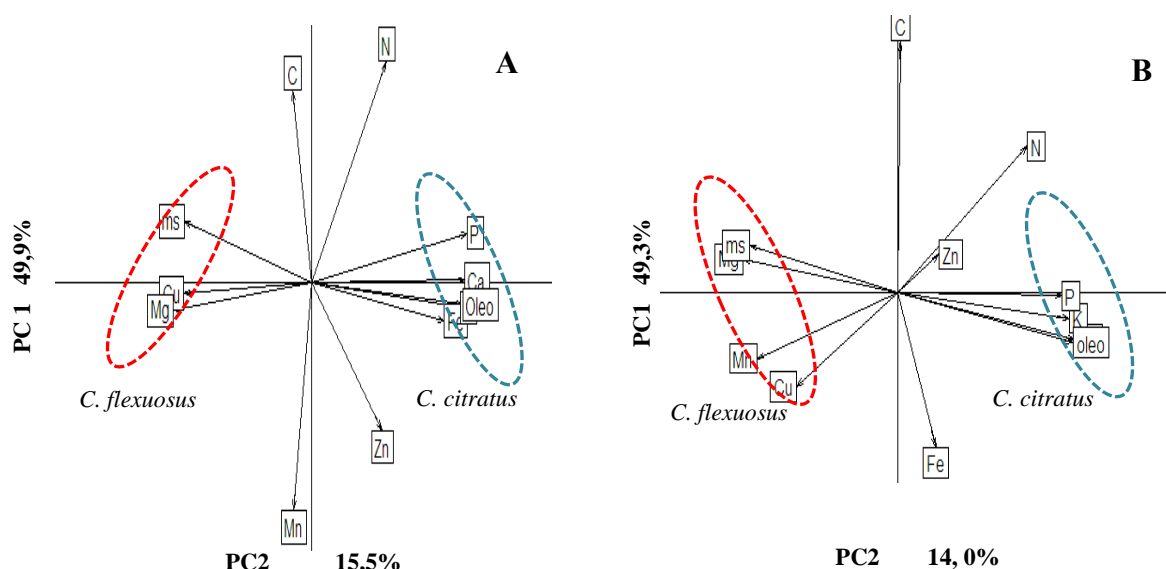


Figura 4.2- Análise de componentes principais (ACP). Correlação entre os teores de nutrientes (%), produção de massa seca (ms) (kg ha^{-1}) e teor de óleo essencial (óleo) (g kg^{-1}) de *C. citratus* e *C. flexuosus* colhidas aos 160 DAP (A) e 220 DAP (B).

De maneira geral na colheita aos 160 e 220 DAP, *C. flexuosus* foi a espécie que apresentou o maior teor de nutrientes associados com a maior produção de biomassa. Já para *C. citratus* observou-se alto teor de óleo essencial na folha, associado a menores teores de nutrientes e produção de biomassa. O agrupamento dos nutrientes do lado oposto ao agrupamento de teor de óleo essencial permite inferir que os elementos nutricionais não têm relação direta com a síntese do metabólito secundário (óleo essencial) na folha e sim, uma relação direta com a produção de biomassa, influenciando deste modo na produção de óleo essencial.

4.4. CONCLUSÕES

Nas condições realizadas no presente experimento, conclui-se que a adição de adubos em solos de alta fertilidade não foi necessária para atingir as exigências nutricionais das espécies *C. citratus* e *C. flexuosus*.

C. flexuosus apresenta maior produção de biomassa, conteúdo de nutrientes e produtividade de óleo essencial em relação à *C. citratus*.

A exigência nutricional de *C. citratus* é C>N>K>Ca>P>Mg>Fe>Zn>Mn>Cu, enquanto *C. flexuosus* é C>N>K>Ca>P>Mg>Fe>Mn>Zn>Cu.

Os maiores teores de Mg e Fe em *C. flexuosus* estão associados com o alto teor de citral no óleo essencial, devido a que os elementos nutricionais são cofatores enzimáticos da rota metabólica do monoterpene.

A fim de conhecer quais as necessidades nutricionais de *C. citratus* e *C. flexuosus* no Brasil é importante desenvolver pesquisas que determinem a composição elementar do material vegetal de interesse (folhas) e a capacidade de absorção da planta.

4.5. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectrometry**. 4th. ed. USA: [s.n.].

AKHILA, A. Biosynthetic relationship of citral-trans and citral-cis in *Cymbopogon flexuosus* (lemongrass). **Phytochemistry**, v. 24, n. 11, p. 2585–2587, out. 1985.

AKHILA, A. **Essential Oil-Bearing Grasses: The genus *Cymbopogon* Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles**. [s.l: s.n.].

ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 94–97, jan. 2002.

ARSENIJEVIĆ, J. *et al.* A chemometrics as a powerful tool in the elucidation of the role of metals in the biosynthesis of volatile organic compounds in Hungarian thyme samples. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 71, p. 298–306, out. 2013.

BALAKRISHNAN, B.; PARAMASIVAM, S.; ARULKUMAR, A. Evaluation of the lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. Suppl 1, p. S134–S139, 2014.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. V; SAWAZAKI, E. Adubação do sorgo-granífero, forrageiro e vassoura. In: **Boletim técnico: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p. 66–67.

CHAPMAN, M.; KEAY, J. The effect of age on the response of wheat to nutrient stress. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 11, n. 49, p. 223, 1971.

CUNHA, E. *et al.* Adubação orgânica e teores de nutrientes no Capim-limão. **Revista da Biologia**, v. 9, n. 1, p. 1–5, dez. 2012.

DAROLT, M. R. **Comparação entre a qualidade do alimento orgânico e convencional**. 1. ed. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa - UFV, 2003. v. 1

ENDALAMAW, F.; CHANDRAVANSI, B. Levels of major and trace elements in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits cultivated in Ethiopia. **SpringerPlus**, v. 4, n. 1, p. 5, 2015.

HAWKESFORD, M. *et al.* Functions of Macronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2011. p. 135–189.

IJIMA, Y. *et al.* Analysis of the enzymatic formation of citral in the glands of sweet basil. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 448, n. 1-2, p. 141–149, abr. 2006.

JOY, P. P. **Agrotechnological practices for quality crude drug production in Nilappana (*Curculigo orchoides* Gaertn.)**. [s.l.] Kerala Agricultural University, 2003.

KIM, K. K.; SAWA, Y.; SHIBATA, H. Hydroxylation of ent-Kaurenoic Acid to Steviol in *Stevia rebaudiana* Bertoni—Purification and Partial Characterization of the Enzyme. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 332, n. 2, p. 223–230, ago. 1996a.

KIM, K. K.; SAWA, Y.; SHIBATA, H. Hydroxylation of ent-Kaurenoic Acid to Steviol in *Stevia rebaudiana* Bertoni—Purification and Partial Characterization of the Enzyme. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 332, n. 2, p. 223–230, ago. 1996b.

KITATA, B. R.; CHANDRAVANSI, S. B. Concentration levels of major and trace metals in onion (*Allium cepa* L.) and irrigation water around Meki Town and Lake Ziway, Ethiopia. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 26, n. 1, p. 27–42, 10 jan. 2012.

LEWINSOHN, E. *et al.* Histochemical Localization of Citral Accumulation in Lemongrass Leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, v. 81, p. 35–39, 1998.

LORENZETTI, E. *et al.* Controle da ferrugem das folhas do capim-limão [*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf] com produtos naturais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, p. 571–578, 2012.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: [s.n.].

MARTINS, A. P. L.; REISSMANN, C. B. Laboratory routine for chemical and analytical procedures on plant tissues. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 1–17, 2007.

MISRA, A.; SRIVASTAVA, N. K. Effect of the triacontanol formulation “Miraculan” on photosynthesis, growth, nutrient uptake, and essential oil yield of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) Steud. Watts. **Plant Growth Regulation**, v. 10, n. 1, p. 57–63, fev. 1991.

NAGEGOWDA, D. A. Plant volatile terpenoid metabolism: Biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation. **FEBS Letters**, v. 584, n. 14, p. 2965–2973, jul. 2010.

NAMBIAR, V. S.; MATELA, H. Potential Functions of Lemon Grass (*Cymbopogon citratus*) in Health and Disease. **International Journal of Pharmaceutical & Biological**, v. 3, n. 5, p. 1035–1043, 2012.

NISHIJIMA, C. M. *et al.* Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic antinociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 736, p. 16–25, ago. 2014.

NIST. **NIST Livro de Química na Web**. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>. Acesso em: 24 jun. 2015.

RAO, B. R. R. Biomass and essential oil yields of rainfed palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. *motia* Burk.) supplied with different levels of organic manure and fertilizer nitrogen in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, v. 14, n. 3, p. 171–178, nov. 2001.

SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Potent odorants resulting from the peroxidation of lemon oil. **European Food Research and Technology**, v. 189, n. 1, p. 26–31, jul. 1989.

SHAHI, A. K. *et al.* Determination of essential oil quality index by using energy summation indices in an elite strain of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf [RRL(J)CCA12]. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 2, p. 118–121, mar. 2005.

SILVA, F. DE A. S. E. **ASSISTAT beta 7.7** Campina Grande, 2015.

SIMEPAR. **Temperatura média, precipitação mensal e umidade relativa Pinhais.** (Arquivo Eletrônico txt). Curitiba: [s.n.].

SINGH, M.; SHIVARAJ, B.; SRIDHARA, S. Effect of Plant Spacing and Nitrogen Levels on Growth, Herb and oil Yields of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. var. cauvety). **J. Agronomy & Crop Science**, v. 177, p. 101–105, 1996.

SKARIA, B. P. *et al.* Lemongrass. In: PETER, K. V. (Ed.). **Handbook of Herbs and Spices**. India: Elsevier, 2006. v. 3p. 400–419.

SUGA, T.; ENDO, T. Geranyl diphosphate synthase in leaves of *Pelargonium roseum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 6, p. 1757–1761, jan. 1991.

TAJIDIN, N. E. *et al.* Growth Performance and Nutrient Concentration of “Hijau” Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) as Affected by Maturity Stages at Harvest. In: **The role of plant physiology in climate change adaptation and mitigation**. Selangor: [s.n.]. v. 19p. 35–39.

THOLL, D.; CROTEAU, R.; GERSHENZON, J. Partial Purification and Characterization of the Short-Chain Prenyltransferases, Geranyl Diphosphate Synthase and Farnesyl Diphosphate Synthase, from *Abies grandis* (Grand Fir). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 386, n. 2, p. 233–242, fev. 2001.

5. PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE DUAS ESPÉCIES DE CAPIM-LIMÃO EM DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

RESUMO

O nitrogênio é um dos nutrientes determinantes na produção de gramíneas devido à essencialidade do elemento como constituinte de aminoácidos e proteínas. No entanto, devido aos altos custos da adubação nitrogenada e às perdas do nutriente por lixiviação e volatilização, estudos com utilização de doses de nitrogênio são necessárias. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes níveis de nitrogênio sobre o crescimento e produção de óleo essencial de duas espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2 comparando a resposta das doses de nitrogênio (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹) em ambas as espécies em condições de casa de vegetação. A produção de massa fresca, massa seca, número de folhas, altura, área foliar e teor de óleo essencial e de citral foi avaliada aos 90 e 150 dias após plantio (DAP). Não houve efeito dos níveis de N na altura, número de folhas, área foliar e massa fresca para ambas as espécies nas duas colheitas realizadas. A massa seca de *C. flexuosus* foi superior nas doses 80 e 120 kg ha⁻¹ de N. *C. citratus* apresentou menor altura e maior teor de óleo essencial. *C. flexuosus* apresentou maior teor de citral e ausência de β mircenos no óleo essencial.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus*, ureia, citral.

ESSENTIAL OIL PRODUCTION OF TWO LEMON GRASS SPECIES AT DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN

ABSTRACT

Nitrogen is one of determining nutrients of grasses production because of the essentiality of the element as a constituent of amino acids and proteins. However, as a result of the high costs of nitrogen fertilizer and high nutrient losses through leaching and volatilization, studies of adequate doses of nitrogen are necessary. The aim of this work was to evaluate the effect of nitrogen doses on growth and essential oil production of two species of lemon grass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf and *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson). The experimental design was completely randomized in a 5x2 factorial comparing the nitrogen doses (0, 40, 80, 120 and 160 kg ha⁻¹) in both species under greenhouse conditions. The fresh and dry matter production, leaf number and area, plant height and essential oil yield and citral content was evaluated at 90 and 150 days after planting. There was no effect of levels of N in plant height, leaf number and area and fresh weight for both species and in both harvests. The dry weight of *C. flexuosus* was higher with doses of 80 and 120 kg ha⁻¹ de N. *C. citratus* presented lower height and more essential oil yield. *C. flexuosus* showed higher citral content and absence of β -myrcene in the essential oil.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus*, urea, citral.

5.1. INTRODUÇÃO

O capim-limão é cultivado comercialmente em países tropicais e subtropicais como Brasil, Colômbia, Honduras, Argentina, Cuba, Equador, Venezuela, Índia e África (ORTIZ; MARRERO; NAVARRO, 2002). A planta é usada principalmente para extração de óleo essencial rico em compostos terpênicos como o citral, utilizado industrialmente em alimentos, medicamentos, produtos de beleza e limpeza, além do tradicional uso como planta aromática e medicinal (NAMBIAR; MATELA, 2012).

No Brasil a espécie mais difundida é *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, seguida de *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson, que é menos conhecida para cultivo, apesar de obter maior produção de biomassa e elevado teor de citral (CASTRO; RAMOS, 2003).

Por pertencer às gramíneas, apresentam grande demanda por nitrogênio (N), visto que influencia o perfilhamento até a formação da touceira e desenvolvimento de folhas (CANTARELLA; RAIJ; SAWAZAKI, 1997).

O N é um constituinte essencial de ácidos nucleicos, clorofila, proteínas estruturais de tecidos e enzimas da fotossíntese como ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (LAWLOR, 1991). Além disso, é constituinte estrutural de purinas, pirimidinas formadoras do DNA e RNA, porfirinas e coenzimas essenciais na formação de enzimas (HAWKESFORD *et al.*, 2011).

O conteúdo deste elemento essencial é de aproximadamente 1 a 5% da massa seca vegetal, sendo reportado em *C. citratus* em média 0.74% de N na folha (JOY, 2003). Com o tempo, a concentração de N tende a diminuir quando a planta atende a maturidade fisiológica, devido ao engrossamento da parede celular (lignificação) e diminuição do citoplasma com conteúdo proteico, ácidos nucleicos e clorofila (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

Um dos fatores que pode alterar as taxas de produção e composição química do óleo essencial é a nutrição, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes pode interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípio ativo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A deficiência de N não só restringe o número de perfilhos, senão que restringe o crescimento de folhas individuais e a sua capacidade fotossintética (WHITEHEAD, 2000). No entanto, a insuficiência do N diminui o desenvolvimento foliar aumentando a densidade de estruturas que armazenam o conteúdo de monoterpenos nas folhas, aumentando a

concentração de óleo como consequência de um menor desenvolvimento foliar (GENDY; HEGAZY; EL-SAYED, 2013; GERSHENZON, 1994).

A aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas e medicinais influencia a produção de óleos essenciais, portanto, há necessidade de avaliar as exigências de cada espécie e os níveis adequados de adubação (SANGWAN *et al.*, 2001).

Neste sentido, a fertilização nitrogenada afeta a produtividade do óleo essencial por meio do incremento da produção de biomassa total por unidade de área, já que a resposta está associada a múltiplas e complexas interações (LOPES *et al.*, 1997; SANGWAN *et al.*, 2001).

Assim, para a produção de plantas aromáticas e medicinais, a adubação deve buscar não apenas aumento da biomassa, mas também maior quantidade e qualidade do óleo essencial (GUILHON DE CASTRO; FERREIRA; SILVA, 2004).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de cinco doses de nitrogênio mineral na produção de biomassa, produção de óleo essencial e citral em *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon flexuosus*.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Caracterização do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba, Brasil, entre fevereiro e julho de 2014. O solo utilizado na experimentação foi coletado da Fazenda Experimental do Cangüiri a partir dos primeiros 20 cm superficiais do solo, sendo destorreado, passado em peneira de 2 mm e homogeneizado. A análise química do solo apresenta-se na tabela 5.1.

Tabela 5.1- Características químicas do solo das camadas 0-10 e 10-20 cm de profundidade, antes da instalação do experimento. Pinhais, PR, 2013.

cm	pH	P	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	V	MO
	CaCl ₂	mg dm ⁻³		cmolc dm ⁻³ %	
0-20	4,8	14,1	0	10,20	6,1	3,1	0,57	9,8	20,0	49	5,2

P= fósforo extraído por Melich-1; SB= soma de bases; T= capacidade de troca catiônica efetiva; V= saturação por bases; MO= matéria orgânica.

Uma vez preparado o solo, foi colocado em vasos com capacidade de 3 kg e realizado o plantio o dia 25 de fevereiro de 2014, sendo coletadas no mesmo dia, mudas de plantas mãe da Fazenda Cangüiri, preparadas por meio de poda de raiz e folhas à altura de 3 cm a partir da meristema radicial e apical respectivamente.

Foram plantadas duas mudas por vaso das espécies *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf), sendo cada vaso uma unidade experimental (Figura 5.1). Ao longo da experimentação procurou-se manter a umidade 70 % da capacidade do solo.

5.2.2. Delineamento experimental

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, em esquema fatorial 2x5 sendo testadas duas espécies de capim-limão: *C. citratus* e *C. flexuosus* com cinco doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg N ha⁻¹). A dose 0 kg N ha⁻¹ refere-se ao controle (sem adição de N). A fonte nitrogenada foi ureia (45%).

As doses de N foram maceradas, pesadas e incorporadas como adubo de cobertura, para evitar possíveis perdas por volatilização. A aplicação foi realizada 30 dias após o plantio (DAP) em função de um maior desenvolvimento radicular com capacidade de absorção.

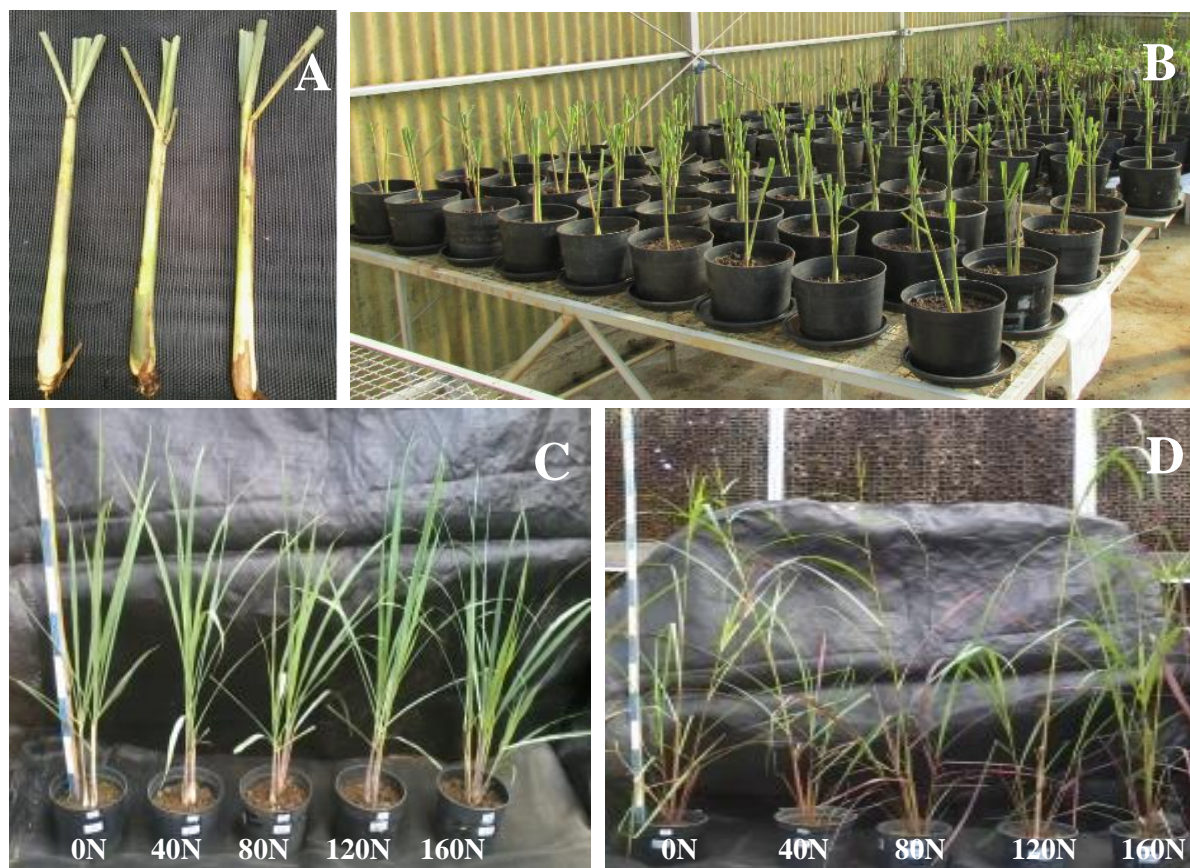


Figura 5.1- Plantio em casa de vegetação de *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf). **A.** Mudas com poda de raiz e folhas à altura de 3 cm acima do meristema apical e radicial. **B.** Disposição dos vasos com as mudas. **C.** Medição da altura máxima de 80 cm atingida em *Cymbopogon citratus*. **D.** Medição da altura máxima de 140 cm atingida em *Cymbopogon flexuosus*.

5.2.3. Produção de biomassa e de produtividade de óleo essencial

Para a análise de crescimento e produtividade de óleo essencial, foram realizadas duas colheitas, a primeira, em 26 de maio aos 90 DAP e a segunda, em 25 de julho aos 150 DAP. As colheitas foram realizadas manualmente com tesoura de poda, a uma altura de 5 cm a partir da meristema apical. Em cada planta foi avaliado o número de folhas, altura da touceira, área foliar, massa fresca, massa seca, teor de óleo essencial e percentual de citral.

A altura foi mensurada com fita métrica e o número de folhas foi contado manualmente. A massa fresca foi obtida do peso total de folhas frescas colhidas das quatro unidades experimentais que formavam cada nível de N. Determinou-se a massa seca com subamostras de até 5 g frescas que foram secas em estufa a 65°C até peso constante. A área foliar foi medida com o sistema WinRHIZO Pro 2007 (Régent Instr. Inc.), acoplado a um scanner profissional Epson XL 10000, do Laboratório de Fitotecnia da UFPR.

O óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação durante um período de tempo de 120 min após fervura, em aparelho tipo Clevenger, disponível no Laboratório de Ecofisiologia da UFPR, utilizando até 50 g de folhas frescas.

Transcorrido o tempo de extração o óleo essencial resultante foi coletado com micropipeta ajustável e em seguida, quantificado e armazenado em frascos Eppendorf de 1 ml a -20°C até análise de composição química.

Foi calculado o teor de óleo essencial (%) produzido em base à massa seca das folhas produzidas.

A quantificação do citral e demais constituintes químicos do óleo essencial das espécies estudadas, foi realizada por cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massa usando um cromatógrafo Agilent Technologies modelo 7890 A GC System do Laboratório de Ecofisiologia da UFPR e espectrômetro de massa marca Varian Inc, modelo CP-3800 com detector Saturn 2000 MS/MS.

Devidos aos altos custos das análises cromatográficas, estas não foram realizadas por repetições, senão da união de uma amostra composta de 1µl de cada uma delas, que representou a alíquota para a correspondente leitura no cromatógrafo.

Os constituintes majoritários do óleo essencial foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção e coincidência dos picos usando como referência os padrões da biblioteca de espectros disponibilizada pela Embrapa Agroindústria de Alimentos. Foi injetado 1 µL de óleo essencial a razão de 1:100 split a 300°C.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparadas as médias pelo teste de Tukey a 5 % de significância. Para as análises estatísticas utilizou-se o programa Assistat versão 7.7 beta (SILVA, 2015).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Produção de biomassa

Na colheita aos 90 DAP as doses de N aplicadas às espécies *C. citratus* e *C. flexuosus*, não afetaram a produção de massa fresca, massa seca, área foliar, número de folhas e produção de óleo essencial, mas houve diferenças entre as espécies para a variável altura da planta ($p < 0,05$) (Tabela 5.1). *C. flexuosus*, atingiu a maior altura com uma média de 139,5 cm, enquanto *C. citratus* registrou 84,02 cm no mesmo período de crescimento. Aos 150 DAP, a espécie *C. flexuosus* alcançou uma altura de 99,8 cm, enquanto *C. citratus* uma altura de 75,4 cm.

Aos 150 DAP o tratamento controle e 40 kg N ha⁻¹ atingiram as produções mais baixas de massa seca (m.s) em *C. flexuosus* com 1,5 e 1,6 g planta⁻¹ respectivamente, sem observar efeito algum em *C. citratus*. As doses 80 e 120 kg N ha⁻¹ apresentaram aumento significativo da produção de massa seca ($p < 0,05$) com valores de 2,9, 2,7 kg N ha⁻¹ respectivamente em *C. flexuosus* (Figura 5.2). Por sua vez, a dose de 160 kg N ha⁻¹ registrou uma queda na produção sendo em média de 1,9 (g m.s planta⁻¹). A espécie que apresentou os melhores resultados de produção de massa seca foi *C. flexuosus* ($p < 0,05$).

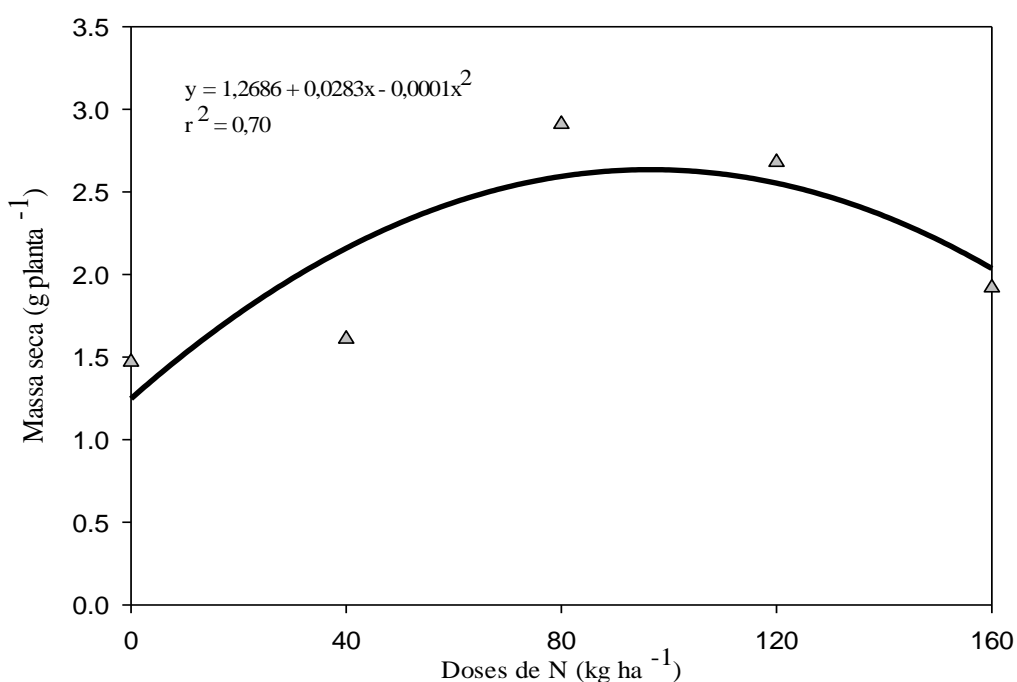


Figura 5.2- Relação entre as doses de N e a produção de massa seca por planta em *C. flexuosus* aos 150 DAP.

Todas as variáveis estudadas aos 150 DAP obtiveram resultados inferiores em relação à primeira colheita, fato que pode estar relacionado com o tempo de recuperação de folhas que foi de 60 dias entre os dois cortes, além das menores temperaturas após a primeira colheita, sendo a temperatura média mínima de 13,4 °C, média 17,08 °C e máxima 22,6 °C (SIMEPAR, 2014).

Aos 90 DAP não houve diferenças na produção de biomassa de ambas as espécies possivelmente por estar relacionado com o período de avaliação, sendo curto para expressar uma diferença entre as doses de N e a que o rizoma tinha reserva nutricional suficiente para garantir o crescimento. Seixas *et al* (2013) observaram que com diferentes níveis de NPK em *Cymbopogon nardus* o acúmulo de massa fresca e seca não foi afetado nas colheitas aos 60 e 88 DAP, resultado semelhante ao obtido nesta pesquisa.

Uma baixa ou nula resposta da fertilização com ureia sobre a altura, número de folhas, área foliar, massa fresca e massa seca em gramíneas como *C. citratus* e *C. flexuosus*, pode ter relação com o baixo desenvolvimento de perfilhos (dados não publicados). Em capins, o perfilhamento continuamente produz novas folhas em uma relação direta com a temperatura (WHITEHEAD, 2000). Nesta pesquisa, a temperatura mínima média foi 14,56 °C (SIMEPAR, 2014) durante os dois meses após aplicação do N, diminuindo para 10,23 °C após a primeira colheita, o que possivelmente influenciou na baixa formação de perfilhos.

Assim, o que provavelmente influenciou na quantidade de folhas e consequente produção de biomassa foi o número de perfilhos e não a fertilização nitrogenada. Neste sentido, Wilman e Wright (1983) também não encontraram efeitos significativos do N sobre a quantidade de folhas em gramíneas.

A espécie que obteve maior produção de biomassa e elevado teor de citral foi *C. flexuosus*, resultado semelhante ao encontrado por Castro e Ramos (2003). Por sua vez, May *et al* (2008) compararam as espécies *C. citratus* e *C. flexuosus*, encontrando que *C. flexuosus* foi 24% superior em produção de biomassa, quando avaliadas em iguais períodos de corte, destacando-se a capacidade produtiva da espécie frente a *C. citratus*. Isto pode ser explicado pelas marcantes diferenças morfológicas entre espécies (SKARIA *et al.*, 2006).

No entanto, os resultados deste experimento, não permitiram observar a diferença entre espécies na produção de biomassa, o que poderia ter explicação na sensibilidade de *C. flexuosus* à separação dos perfilhos da touceira, à poda de raiz no momento do preparo da muda e ao florescimento apresentado ao começo da segunda colheita que coincidiu com a chegada do período invernal. Embora estas características não foram avaliadas, durante o

início do ensaio observou-se que as mudas de *C. flexuosus* demoraram mais tempo para se recuperar dos cortes do que *C. citratus*, que se recuperou rapidamente tanto em desenvolvimento de folhas quanto de raízes, fato que possivelmente influenciou em que não se apresentassem diferenças entre espécies.

5.3.2. Teor de óleo essencial

O teor de óleo essencial de *C. citratus* e *C. flexuosus* não foi alterado pelas doses de N aplicadas tanto no corte aos 90 quanto aos 150 DAP. No entanto, houve diferenças entre as espécies sendo que o teor de óleo essencial variou 34,3% entre elas, com um valor médio de 1,6% para *C. citratus* e 0,5% para *C. flexuosus* na primeira colheita. Já na segunda colheita, a variação entre as espécies foi de 29,8% a mais para *C. citratus*. Este resultado foi similar ao reportado por Singh (1996), onde nenhum dos níveis de N aplicados a *C. flexuosus* (0, 50, 100 e 150 kg ha⁻¹) influenciaram o conteúdo de óleo essencial.

Pesquisas realizadas com citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) revelaram pouca eficiência do N na produtividade de óleo nesta espécie (RAO *et al.*, 1985). De forma semelhante, Zambrano *et al* (2013), encontraram que a concentração média do óleo essencial das folhas de *Lippia alba* e *Lippia origanoides* não variou com os diferentes níveis de N aplicados.

Em plantas condimentares como *Thymus* spp. e *Origanum vulgare* foi encontrado que a fertilização nitrogenada influencia a produção de massa seca, mas não a produtividade e composição do óleo essencial (AZIZI; YAN; HONERMEIER, 2009; BARANAUSKIENĖ *et al.*, 2003). Isto indica que não há dependência nutricional por nitrogênio para a produção de compostos secundários à base de carbono como os terpenóides (constituintes do óleo essencial de capim-limão) o que coincide com a hipótese de equilíbrio carbono-nutrientes (BRYANT; CHAPIN; KLEIN, 1983; GERSHENZON, 1994).

A hipótese carbono/nutrientes propõe que plantas crescendo em solos pobres em fertilidade, tendem a produzir maior quantidade de carboidratos estruturais, que estão diretamente relacionados com a produção de terpenos (CROTEAU; EL-BIALY; DEHAL, 1987; LLUSIA *et al.*, 2014). Perante uma mínima escassez de N as taxas de fotossíntese continuam sendo normais, mas com o crescimento limitado (CHAPIN, 1980), acumulando carboidratos que podem ser canalizados para produção de metabólitos secundários, sendo este o comportamento evidenciado no tratamento sem N (0 kg N ha⁻¹) na espécie *C. citratus*.

Tabela 5.2- Efeito das doses de N sobre a altura (cm), n° de folhas, área foliar (cm²), massa fresca (g planta⁻¹), massa seca (g planta⁻¹) e teor de óleo essencial aos 90 e 150 DAP em *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey; p < 0,05).

Colheita aos 90 DAP														
Dose (kg ha ⁻¹)	Altura (cm)		n° Folhas		Área folhar (cm ²)		Massa fresca (g planta ⁻¹)		Massa seca (g planta ⁻¹)		% Óleo essencial			
	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf		
0	84,4	133,4	13,1	11,1	183,3	205,3	14,4	12,3	3,6	3,9	2,0	0,6		
40	83,8	137,8	13,9	16,0	156,0	206,5	16,3	15,1	4,1	4,7	1,9	0,5		
80	84,5	149,8	14,8	15,8	159,2	189,0	17,5	17,0	4,5	5,5	1,7	0,5		
120	82,5	129,6	14,1	11,7	160,7	205,1	16,4	17,9	4,2	4,7	1,5	0,6		
160	84,9	146,8	16,0	19,8	164,7	250,5	17,4	20,8	4,5	6,1	1,4	0,7		
Média	84,0	b 139,5	a 14,4	a 14,9	a 164,8	a 211,3	a 16,4	a 16,6	a 4,2	a 5,0	1,7	a 0,6	b	
CV (%)	7,1		28,0		42,0		20,1		23,7		33,9			
Colheita aos 150 DAP														
0	77,5	101,3	7,7	5,3	87,0	66,0	6,2	4,2	1,5	Aa 1,5	Ba 1,5	1,2	0,3	
40	76,3	98,1	8,8	6,9	62,9	79,6	6,6	4,8	1,7	Aa 1,7	Ba 1,6	1,4	0,3	
80	73,4	92,7	8,6	8,5	83,1	72,9	6,4	7,5	1,7	Ab 2,9	Aa 2,9	0,8	0,2	
120	77,8	100,5	7,2	10,5	82,2	80,9	6,1	6,8	1,5	Ab 2,7	Aa 2,7	0,9	0,3	
160	71,9	106,5	9,4	7,5	84,0	84,0	6,2	5,6	1,5	Aa 1,9	ABa 1,9	0,6	0,3	
Média	75,4	b 99,8	a 8,3	a 7,7	a 79,8	a 76,7	a 6,3	a 5,8	a 1,6	2,1		1,0	a 0,3	b
CV (%)	8,0		29,5		17,0		18,5		23,2		40,0			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey P < 0.05. C₁: compostagem de esterco bovino; C₂: compostagem de esterco caprino; C₃: compostagem de camada avícola. ^{ns} não significativo.

5.3.3. Composição do óleo essencial

Não foram observadas diferenças entre os constituintes químicos do óleo essencial, decorrentes das doses de N aplicadas (Tabela 5.3). Porém, houve diferença entre espécies com relação à composição química do óleo.

A qualidade do óleo essencial é determinada principalmente pela porcentagem do seu constituinte majoritário. Neste sentido, o teor de citral como composto químico principal no capim-limão, apresentou maior teor na espécie *C. flexuosus* com uma média 84,7% aos 90 DAP e 96,1% para a colheita aos 150 DAP. Não foi possível realizar a quantificação do teor de óleo essencial no tratamento testemunha de *C. citratus*, pois não foi obtido óleo essencial na extração por falta de massa suficiente.

Por outro lado, a espécie *C. citratus* apresentou uma média para a primeira colheita de 75,8% e para a segunda colheita um aumento registrado em 96,1%. A diferença entre os teores de citral está determinada pelas menores quantidades de neral e geranial na essência *C. citratus*, aliás, do alto percentual do composto β -Mirceno que em *C. flexuosus* foi ausente.

Tabela 5.3- Composição química do óleo essencial em *Cymbopogon citratus* (Cc) e *Cymbopogon flexuosus* (Cf) aos 90 e 150 DAP.

Compostos	Colheita aos 90 DAP													
	Doses de N (kg ha ⁻¹)													
			0		40		80		120		160		Média	
	IR ^a	IR ^b	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf	Cc	Cf
β-Mirceno	990	988	12,0	-	12,8	-	12,4	-	13,7	-	9,3	-	12,0	-
Neral *	1241	1235	29,7	28,8	29,6	30,7	30,6	32,0	30,0	31,3	30,9	30,7	30,2	30,7
Geranial *	1272	1264	45,8	56,7	44,0	53,6	46,3	53,7	44,9	54,1	47,2	52,1	45,6	54,0
Minoritários	-	-	8,6	11,1	10,0	12,4	8,2	11,1	8,6	11,9	9,0	13,6	8,9	12,0
Citral	-	-	75,5	85,4	73,6	84,3	76,9	85,7	75,0	85,4	78,1	82,8	75,8	84,7
Colheita aos 150 DAP														
β-Mirceno	990	988	0,0	-	10,2	-	6,6	-	10,1	-	12,9	-	8,0	-
Neral *	1241	1235	0,0	28,0	28,0	27,7	28,2	28,5	28,1	27,7	27,4	27,8	22,3	27,9
Geranial *	1272	1264	0,0	58,9	48,6	58,0	51,3	58,2	48,8	56,5	47,1	55,3	39,2	57,4
Minoritários	-	-	0,0	8,8	9,3	10,6	9,8	9,3	9,1	12,0	9,3	13,3	7,5	10,8
Citral	-	-	0,0	86,9	76,6	85,6	79,5	86,7	76,9	84,3	74,5	83,1	61,5	85,3

Cc: *Cymbopogon citratus*; Cf: *Cymbopogon flexuosus*. (*): monoterpenos que compõem o Citral. IR^a: índice de retenção calculado. IR^b: índice de retenção da literatura. DAP: Dias após plantio.

O percentual dos constituintes químicos do óleo essencial de cada espécie, não foi influenciado pelas doses de N. Porém, houve diferença entre as espécies no teor de citral. Este composto é uma mescla dos isômeros geométricos geranial (citral a) e neral (citral b), que

quando quantificado em uma essência com teores superiores de 75 % é considerado como de alta pureza (SKARIA *et al.*, 2006).

A espécie *C. citratus* apresentou como constituintes majoritários, β -Mirceno, Neral e Geranial, enquanto *C. flexuosus* apresentou os mesmos constituintes menos β -Mirceno. Óleos essenciais que apresentam β -Mirceno na sua composição são pouco solúveis em etanol, portanto, representam uma limitante para a indústria perfumista (RODRÍGUEZ; SANTOS, 2008).

Os valores percentuais dos compostos majoritários do óleo essencial de *C. citratus* e *C. flexuosus* mostrados na Tabela 5.3 encontram-se dentro dos níveis citados pela literatura, sendo que para a primeira espécie, reportam-se entre 10% a 48% para geranial e 3% a 43% para neral. Por sua vez, para a segunda espécie registram-se valores entre 40% a 50% para geranial e 30% a 35% para neral (GUENTHER, 1948; ZHENG; KENNEY; LAM, 1993).

A baixa variação das proporções de geranial e neral com doses crescentes de N foi reportada em pesquisas anteriores. O uso de 0, 50, 100 e 150 kg N ha⁻¹ não afetou as proporções entre os componentes majoritários geranial e neral (SINGH; SHIVARAJ; SRIDHARA, 1996) e com os níveis 0, 30, 60 e 90 kg N/há⁻¹ ano não houve diferenças entre as proporções destes compostos no óleo essencial de *C. flexuosus* (CHAKRABORTY *et al.*, 2015).

5.4. CONCLUSÕES

A espécie *C. flexuosus* responde às doses de N superiores a 80 kg ha⁻¹ após 150 dias de plantio para a produção de massa seca.

As doses de nitrogênio não influenciam a altura, número de folhas, área foliar, massa fresca, teor e composição de óleo essencial nas condições do experimento.

A espécie *C. flexuosus* apresenta maior altura e teor de citral superior nas duas épocas de colheita quando comparada com *C. citratus*.

A espécie *C. citratus* apresenta maior teor de óleo essencial do que *C. flexuosus*.

5.5. REFERÊNCIAS

AZIZI, A.; YAN, F.; HONERMEIER, B. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 2-3, p. 554–561, mar. 2009.

BARANAUSKIENĖ, R. *et al.* Influence of Nitrogen Fertilizers on the Yield and Composition of Thyme (*Thymus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 26, p. 7751–7758, dez. 2003.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365–372, abr. 2000.

BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S.; KLEIN, D. R. Carbon/Nutrient Balance of Boreal Plants in Relation to Vertebrate Herbivory. **Oikos**, v. 40, n. 3, p. 357, maio 1983.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. V.; SAWAZAKI, E. Adubação do sorgo-granífero, forrageiro e vassoura. In: **Boletim técnico: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. p. 66–67.

CASTRO, L. O. DE; RAMOS, R. L. D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais. **Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAgro)**, v. 11, p. 1–28, 2003.

CHAKRABORTY, H. *et al.* Effect of irrigation regimes and nitrogen levels on herbage and oil yield, oil quality, nutrient uptake and economics of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) in a sandy loam soil of Orissa. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 80, n. October, p. 713–718, 2015.

CHAPIN, F. S. The Mineral Nutrition of Wild Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, n. 1, p. 233–260, nov. 1980.

CROTEAU, R.; EL-BIALY, H.; DEHAL, S. Metabolism of Monoterpenes. **Plant Physiol**, v. 84, p. 643–648, 1987.

GENDY, E. A. G.; HEGAZY, A. .; EL-SAYED, S. M. Effect of biofertilizers and/or urea on growth, yield, essential oil and chemical compositions of *Cymbopogon citratus* Plants. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 9, n. 1, p. 309–320, 2013.

GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, p. 1281–1328, 1994.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GUENTHER, E. **The essential oils**. New York: [s.n.].

GUILHON DE CASTRO, H.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. **Contribuição ao Estudo das Plantas Medicinais - Metabólitos Secundários**. [s.l.: s.n.].

HAWKESFORD, M. *et al.* Functions of Macronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2011. p. 135–189.

JOY, P. P. **Agrotechnological practices for quality crude drug production in Nilappana (*Curculigo orchioides* Gaertn.)**. [s.l.] Kerala Agricultural University, 2003.

LAWLOR, D. W. Concepts and nutrition in relation to cellular processes and enviromental. In: PORTER, J. R.; LAWLOR, D. W. (Eds.). **Plant Growth: Interations whit Nutrition and Enviroment**. Ilustrada ed. Cambridge: Cambridge Universty press, 1991. p. 284.

LLUSIA, J. *et al.* Decreased rates of terpene emissions in *Ornithopus compressus* L. and *Trifolium striatum* L. by ozone exposure and nitrogen fertilization. **Environmental Pollution**, v. 194, p. 69–77, nov. 2014.

LOPES, N. P. *et al.* Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 689–693, out. 1997.

MAY, A. *et al.* Influência do intervalo entre cortes sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 379–382, set. 2008.

NAMBIAR, V. S.; MATELA, H. Potential Functions of Lemon Grass (*Cymbopogon citratus*) in Health and Disease. **International Journal of Pharmaceutical & Biological**, v. 3, n. 5, p. 1035–1043, 2012.

ORTIZ, R. S.; MARRERO, G. V; NAVARRO, A. L. T. Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (caña santa). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 7, n. 2, p. 89–95, 2002.

RAO, P. E. V. S. *et al.* Effect of urea and neem cake coated urea on yield, and concentration and quality of essential oil in Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **The Journal of Agricultural Science**, v. 104, n. 02, p. 477, abr. 1985.

RODRÍGUEZ, A. P. V; SANTOS, E. J. B. **Estudio de la composición química de los aceites esenciales de seis especies vegetales cultivadas en los municipios de Bolívar y el Peñón, Santander, Colombia**. [s.l.] Universidad Industrial de Santander, 2008.

SANGWAN, N. S. *et al.* Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p. 3–21, 2001.

SEIXAS, P. T. *et al.* Efeito da adubação mineral na produção de biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 852–858, 2013.

SILVA, F. DE A. S. E. **ASSISTAT beta 7.7** Campina Grande, 2015.

SIMEPAR. **Temperatura média, precipitação mensal e umidade relativa Pinhais. (Arquivo Eletrônico txt)**. Curitiba: [s.n.].

SINGH, M.; SHIVARAJ, B.; SRIDHARA, S. Effect of Plant Spacing and Nitrogen Levels on Growth, Herb and oil Yields of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. var. cauvey). **J. Agronomy & Crop Science**, v. 177, p. 101–105, 1996.

SKARIA, B. P. *et al.* Lemongrass. In: PETER, K. V. (Ed.). **Handbook of Herbs and Spices**. India: Elsevier, 2006. v. 3p. 400–419.

WHITEHEAD, D. **Nutrient Elements in Grassland: Soil-plant-animal Relationships**. [s.l.] CABI, 2000.

WILMAN, D.; WRIGHT, P. T. **Some effects of applied nitrogen on the growth and chemical composition of temperate grasses**. [s.l.: s.n.].

ZAMBRANO, E. L. *et al.* Effect of nitrogen fertilization on essential oil yield and composition in different species and accessions of lippia. **ACTA AGRONÓMICA**, v. 62, n. 6, p. 131–137, 2013.

ZHENG, G. Q.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and galanga root oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 2, p. 153–156, fev. 1993.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foram desenvolvidos os experimentos com *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson é possível concluir que:

A adubação com fontes orgânicas e inorgânicas de N (compostagens de dejetos bovino, de caprino, de camada avícola e ureia respectivamente), não aumentaram a produção de biomassa nem a produtividade de óleo essencial em *C. flexuosus* e *C. citratus*. Entretanto o uso de 40 kg ha⁻¹ de compostagem de dejetos bovino, pode diminuir a produção de biomassa em *C. flexuosus* até 18% em relação à testemunha (sem aplicação de N).

A composição química do óleo essencial de *C. flexuosus* mostrou 80% de citral, e ausência de β -mirceno, o que classifica o óleo essencial como de alta qualidade para uso industrial.

A espécie *C. citratus* é superior 10% no teor de óleo essencial em relação a *C. flexuosus*. No entanto, a qualidade é inferior devido à presença de aproximadamente 13% β -mirceno, composto de difícil solubilidade em álcool, que limita o seu uso pela indústria perfumística.

A espécie *C. flexuosus* é 81% superior a *C. citratus* na produção de massa seca, o que diretamente favorece a produtividade de quilogramas de óleo essencial por área cultivada.

A espécie *C. citratus* apresenta a composição química da folha em ordem decrescente C>N>K>Ca>P>Mg>Fe>Zn>Mn>Cu, enquanto *C. flexuosus* apresenta a mesma distribuição exceto por Mn>Zn.

Os níveis de nitrogênio não afetaram à espécie *C. citratus*, sendo para *C. flexuosus* significativa a dose de 80 e 120 kg N ha⁻¹ aos 150 DAP.

Ao analisar a produção de biomassa e o teor de citral de cada espécie, recomenda-se ao produtor levar em conta o mercado que se deseja atingir, pois a alta produção de biomassa de *C. flexuosus* com menor teor de óleo essencial e a não presença de ferrugem nas folhas, pode suprir as necessidades da indústria do chá. Porém, se o intuito for a produção de óleo essencial para a indústria não perfumista, a espécie *C. citratus* conseguiu atender dita demanda, devido ao alto teor de óleo essencial por grama de massa seca.

REFERÊNCIAS GERAIS

- AHARONI, A.; JONGSMA, M.; BOUWMEESTER, H. Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 12, p. 594–602, dez. 2005.
- AKHILA, A. **Essential Oil-Bearing Grasses: The genus *Cymbopogon* Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles**. [s.l.: s.n.].
- AMARANTE, C. V. T. *et al.* Calagem e adubação fosfatada favorecem o crescimento do capim-limão, *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 1, p. 92–96, 2012.
- ANARUMA, N. D. *et al.* Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. In yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 66–73, mar. 2010.
- BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. **Common Fragrance and Flavor Materials**. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001.
- BERNAL, M. P.; ALBURQUERQUE, J. A.; MORAL, R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p. 5444–5453, nov. 2009.
- BHATTACHARYA, P. *et al.* Towards certification of wild medicinal and aromatic plants in four Indian states. **Unasylva**, v. 59, p. 35–44, 2008.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas Aromáticas, do cultivo à produção de óleo essencial**. 1. ed. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.
- BRAAK, S. A. A. J. VAN DE; LEIJTEN, G. C. J. . **Essential oils and oleoresins : a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union | Clc**. [s.l.] Wageningen, 1994.
- BRASIL. **Consultas Exportação e Importação**. Disponível em: <<http://aliceweb.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 9 jan. 2015.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, ago. 2004.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. V; SAWAZAKI, E. Adubação do sorgo-granífero, forrageiro e vassoura. In: **Boletim técnico: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p. 66–67.
- CARBAJAL, D. *et al.* Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, n. 1, p. 103–107, fev. 1989.

CHAPIN, F. S. The Mineral Nutrition of Wild Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, n. 1, p. 233–260, nov. 1980.

CHOWDHURY, S. R.; TANDON, P. K.; CHOWDHURY, A. R. Chemical Composition of the Essential Oil of *Cymbopogon flexuosus* (Steud) Wats. Growing in Kumaon Region. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 13, n. 5, p. 588–593, jan. 2010.

DIXON, R. Plant natural products: the molecular genetic basis of biosynthetic diversity. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 192–197, 1 abr. 1999.

DJILANI, A.; DICKO, A. The Therapeutic Benefits of Essential Oils. In: BOUAYED, J. (Ed.). **Nutrition, Well-Being and Health**. [s.l.] InTech, 2012. p. 155–178.

DUSTIN, C. D.; COOPER-DRIVER, G. A. Changes in phenolic production in the hay-scented fern (*Dennstaedtia punctilobula*) in relation to resource availability. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 2, p. 99–106, 1992.

EPAGRI. Cultivo de plantas bioativas. **Boletim Didático N. 89. Estado de Santa Catarina: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina**. [s.l.: s.n.].

FIGUEIRINHA, A. *et al.* *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 718–728, out. 2008.

FIGUEIRINHA, A. *et al.* Anti-Inflammatory Activity of *Cymbopogon citratus* Leaf Infusion in Lipopolysaccharide-Stimulated Dendritic Cells: Contribution of the Polyphenols. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 681–690, jun. 2010.

GANJEWALA, D.; LUTHRA, R. Essential oil biosynthesis and regulation in the genus *Cymbopogon*. **Natural product communications**, v. 5, n. 1, p. 163–172, 2010.

GERHARDT, R.-A. A Comparative Analysis of the Effects of Organic and Conventional Farming Systems on Soil Structure. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 14, n. 2, p. 139–157, jan. 1997.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: **Phytochemical Adaptations to Stress**. New York: [s.n.]. p. 273–320.

GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, p. 1281–1328, 1994.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GREGORICH, E. G. *et al.* Biological attributes of soil quality. In: GREGORICH, E. G.; CARTER, M. R. (Eds.). **Soil Quality for Crop Production and Ecosystem Health**. [s.l.] Elsevier, 1997. p. 81–113.

GRIME, J. P. **Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory.** *The American Naturalist*, 1977.

GUENTHER, E. **The essential oils.** New York: [s.n.].

HARGREAVES, J.; ADL, M.; WARMAN, P. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 123, n. 1-3, p. 1–14, jan. 2008.

HARPER, J. E. Nitrogen Metabolism. In: **Physiology and Determination of Crop Yield.** Minnesota: American Society of Agronomy, 1994. p. 601.

HAWKESFORD, M. *et al.* Functions of Macronutrients. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition.** [s.l.] Elsevier Ltd, 2011. p. 135–189.

HECKMAN, J. A history of organic farming: Transitions from Sir Albert Howard's War in the Soil to USDA National Organic Program. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 21, n. 03, p. 143–150, set. 2006.

HERATH, H. M. W.; ORMROD, D. P. Carbon Dioxide Compensation Values in Citronella and Lemongrass. **PLANT PHYSIOLOGY**, v. 59, n. 4, p. 771–772, 1 abr. 1977.

HIREL, B. *et al.* The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 9, p. 2369–2387, 9 mar. 2007.

HUSSAIN, A. I. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 986–995, jun. 2008.

INÁCIO, C.; MILLER, P. **Compostagem: ciência e prática para a gestão de resíduos orgânicos.** Rio de Janeiro: EMBRAPA SOLOS, 2009.

INGESTAD, T.; LUND, A. B. Nitrogen stress in birch seedlings I. growth technique and growth. **Physiologia Plantarum**, v. 45, n. 1, p. 137–148, jan. 1979.

JAYASINHA, P.; WARNASURIYA, D.; DISSANAYAKE, H. **Lemongrass (*Cymbopogon citratus*).** Colombo: [s.n.].

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil—V. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, n. 3, p. 209–213, jan. 1976.

JOY, P. P. **Agrotechnological practices for quality crude drug production in Nilappana (*Curculigo orchioides* Gaertn.).** [s.l.] Kerala Agricultural University, 2003.

KASALI, A. A.; OYEDEJI, A. O.; ASHILOKUN, A. O. Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 5, p. 377–378, set. 2001.

KONZEN, E. A. EMBRAPA M. E. S.; ALVARENGA, R. C. Manejo e utilização de dejetos animais: aspectos agrônômicos e ambientais. **Circular Técnica - Embrapa Milho e Sorgo**, v. 63, p. 1–16, 2005.

LARNEY, F. J.; HAO, X. A review of composting as a management alternative for beef cattle feedlot manure in southern Alberta, Canada. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 17, p. 3221–3227, dez. 2007.

LEÓN, P.; GARCÍA, A. La síntesis de isoprenos a través de la vía MEP; un nuevo blanco de manipulación para la salud y el beneficio humano. **Mensaje Bioquímico**, v. XXXI, p. 77–91, 2007.

LÓPEZ-LÓPEZ, G. *et al.* Impact of fertilisation practices on soil respiration, as measured by the metabolic index of short-term nitrogen input behaviour. **Journal of Environmental Management**, v. 113, p. 517–526, dez. 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: [s.n.].

“MAC”SAFLEY, L. M. *et al.* Agricultural Waste Management System Component Design. In: **Agricultural Waste Management Field Handbook**. [s.l.: s.n.].

MALAVOLTA, E.; DE MORAES, M. F. **O nitrogênio na agricultura brasileira**. [s.l.: s.n.].

MAPA. **Bovinos e Bubalinos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies>>. Acesso em: 13 set. 2014.

MAPA/SDC. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília: [s.n.].

MARINARI, S. *et al.* Evolution of soil organic matter changes using pyrolysis and metabolic indices: A comparison between organic and mineral fertilization. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 13, p. 2495–2502, set. 2007.

MARTUSCELLO, J. A. *et al.* Características morfogênicas e estruturais de capim-massai submetido a adubação nitrogenada e desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 665–671, jun. 2006.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. *et al.* Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, n. 7, p. 1141–1157, 2010.

MIFLIN, B. J.; LEA, P. J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, p. 873–885, 1983.

MISRA, R.V; ROY, R.N; HIRAOKA, H. **On-farm compostin methods**. Rome: FAO, 2003.

MOONEY, H. A. The Carbon Balance of Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 3, n. 1, p. 315–346, nov. 1972.

NATH, S. C. *et al.* Comparison of volatile inflorescence oils and taxonomy of certain *Cymbopogon* taxa described as *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 2, p. 151–162, fev. 2002.

NISHIJIMA, C. M. *et al.* Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 736, p. 16–25, ago. 2014.

PARK, S. J.; HONG, C. R.; CHOI, S. J. Citral degradation in micellar structures formed with polyoxyethylene-type surfactants. **Food Chemistry**, v. 170, p. 443–447, mar. 2015.

PARKINSON, R. *et al.* Effect of turning regime and seasonal weather conditions on nitrogen and phosphorus losses during aerobic composting of cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 2, p. 171–178, jan. 2004.

RAIJ, B. V. *et al.* **Boletim Técnico 100. Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. Adubação do sorgo-granífero, forrageiro e vassoura.** [s.l.: s.n.].

ROS, M. *et al.* Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. **Soil Use and Management**, v. 22, n. 2, p. 209–218, jun. 2006.

SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A. *et al.* Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. **Bioresource Technology**, v. 78, n. 3, p. 301–308, jul. 2001.

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; GRAÇA, L. R. Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas. In: **Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná : diagnóstico e perspectivas.** Curitiba: [s.n.]. p. 272.

SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Potent odorants resulting from the peroxidation of lemon oil. **European Food Research and Technology**, v. 189, n. 1, p. 26–31, jul. 1989.

SEPÚLVEDA, G.; PORTA, H.; ROCHA, M. La Participacion de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 21, p. 355–363, 2004.

SHAH, S.; SARAVANAN, R.; GAJBHIYE, N. A. Phytochemical and physiological changes in Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal) under soil moisture stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 4, p. 255–261, 2010.

SHAHI, A. K. *et al.* Determination of essential oil quality index by using energy summation indices in an elite strain of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf [RRL(J)CCA12]. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 2, p. 118–121, mar. 2005.

SINGH, N.; LUTHRA, R.; SANGWAN, R. S. Mobilization of Starch and Essential Oil Biogenesis during Leaf Ontogeny of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.). **Plant Cell Physiol.**, v. 32, n. 6, p. 803–811, 1 set. 1991.

SKARIA, B. P. *et al.* Lemongrass. In: PETER, K. V. (Ed.). . **Handbook of Herbs and Spices**. India: Elsevier, 2006. v. 3p. 400–419.

STASHENKO, E. E. Aceites esenciales: el espíritu de las plantas. **Innovación y Ciencia, Bogotá**, v. 17, n. 2, p. 28–43, 2010.

TEIXEIRA, B. *et al.* Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 11, p. 2707–2714, 30 ago. 2013.

TIMOFIECSYK, A. *et al.* Perdas de carbono e nitrogênio com aplicação de dejetos líquido bovino em latossolo muito argiloso sob plantio direto e chuva natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 6, p. 1924–1930, dez. 2012.

TWEIB, S. A.; RAHMAN, R. A.; KALIL, M. S. A Literature Review on the Composting. **International Conference on Environment and Industrial Innovation**, v. 12, p. 124–127, 2011.

VÁZQUEZ, M. **Abonos orgánicos**. Disponível em: <[http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/17469/mod_resource/content/1/ABONOS ORGANICOS.pdf](http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/17469/mod_resource/content/1/ABONOS_ORGANICOS.pdf)>.

VOLENEC, J. J.; NELSON, C. J. Responses of Tall Fescue Leaf Meristems to N Fertilization and Harvest Frequency1. **Crop Science**, v. 23, n. 4, p. 720, 1983.

WASSNER, D. F.; RAVETTA, D. A. Nitrogen availability, growth, carbon partition and resin content in *Grindelia chiloensis*. **Industrial Crops and Products**, v. 25, n. 2, p. 218–230, fev. 2007.

WOLFFENBÜTTEL, A. **O que é? FOB**. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/desafios/index.php?option=com_content&view=article&id=2115:catid=28&Itemid=23>. Acesso em: 10 dez. 2014.

ZHELJAZKOV, V. D. *et al.* Lemongrass Productivity, Oil Content, and Composition as a Function of Nitrogen, Sulfur, and Harvest Time. **Agronomy Journal**, v. 103, n. 3, p. 805, 2011.